MIKROANGIOGRAPHISCHE, MORPHOMETRISCHE UND HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN NACH INTRAPERITONEALER INJEKTION HOCHPOLYMERER STOFFE AN SPLENEKTOMIERTEN UND NICHTSPLENENKTOMIERTEN RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

KARL SASSE

aus

KOBLENZ

BONN 1976

MIKROANGIOGRAPHISCHE, MORPHOMETRISCHE UND HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN NACH INTRAPERITONEALER INJEKTION HOCHPOLYMERER STOFFE AN SPLENEKTOMIERTEN UND NICHTSPLENENKTOMIERTEN RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

KARL SASSE

aus

KOBLENZ

BONN 1976

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. W. Wessel
Korreferent: Prof. Dr. K. Sellier
Tag der mündlichen Prüfung: 24.2.1976

Aus dem Pathologischen Institut des
Stadtkrankenhauses Siegburg
Direktor: Prof. Dr. W. Wessel

UNIV. LEIDEN BIBL.

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	6
2. Histologische und morphometrische Untersuchungen	7
2.1. Bisherige Untersuchungen	7
2.2. Material und Methode	11
2.3. Histologische Untersuchungen	14
2.3.1. Eisen-Dextran	14
2.3.1.1. Leber	14
2.3.1.2. Milz	24
2.3.1.3. Niere	26
2.3.1.4. Lunge, Herz, Pankreas	36
2.3.2. Tylose	37
2.3.2.1. Leber	37
2.3.2.2. Milz	38
2.3.2.3. Niere	41
2.3.2.4. Lunge	48
2.3.3. Dextran-Blau	49
2.3.3.1. Leber	49
2.3.3.2. Milz	53
2.3.3.3. Niere	53
2.3.3.4. Lunge	55
2.4. Morphometrische Untersuchungen	57
2.4.1. Eisen-Dextran	57
2.4.2. Tylose	63
2.4.3. Dextran-Blau	67
3. Diskussion	72
3.1. Eisen-Dextran	72
3.2. Tylose	77
3.3. Dextran-Blau	78
4. Zusammenfassung	80
5. Literaturverzeichnis	82

1. Einleitung

Es ist seit langem bekannt, daß parenteral verabreichte, hochpolymere Stoffe im RHS gespeichert werden. Bei den parenteral zugeführten Polymerisaten, die täglich in großen Mengen verabfolgt werden, handelt es sich vor allem um Plasmaexpander z.B. Dextrane Gelatinederivate und Polyvinylpyrrolidon. Die Speicherung im RHS ist stark von der Teilchengröße bzw. dem Molekulargewicht der Polymerisate abhängig. Molekulargewichte unter 7o.ooo sind nierengängig, so daß eine relativ hohe Clearance für diese Polymere besteht.

Andererseits liegt das Molekulargewicht der Spitzenfraktionen der bei uns gebräuchlichen Plasmaexpander bei 11o.ooo (Makrodex) und 28o.ooo (Haemaccel). Damit stellt sich die Frage des exakten Verbleibs hoch- und niedermolekularer, nichtmetabolisierbarer Substanzen, insbesondere unter quantitativen und zeitlichen Gesichtspunkten.

Der Gegenstand unserer Untersuchungen war also eine Prüfung der Speicherungsfähigkeit polymerer Stoffe in Abhängigkeit vom Molekulargewicht. Aus diesem Grunde wählten wir ein Dextran-Derivat mit dem Molekulargewicht 5ooo - 7.5oo in der ersten Versuchsserie. Es handelte sich hierbei um eine Eisen-Dextranverbindung (Imferon), in welcher das leicht nachweisbare Eisen als "Marker" diente. Als Polymer eines höheren Molekulargewichtes wählten wir Tylose. Das Molekulargewicht der Tylose liegt bei 1oo.ooo mit einer Streuung zwischen 8o.ooo und 12o.ooo. Für den histologischen Nachweis der Tylose erwies es sich als notwendig, eigene Färbungen mit Zellulosefarbstoffen wie z.B. Indanthren zu entwickeln. Als Polymer des höchsten Molekulargewichts erwies sich in Vorversuchen das Dextran-Blau als sehr geeignet, bei dem der blaue Farbstoff wieder als "Marker" diente, um über den Verbleib des Dextrans und über quantitative Messungen in Organhomogenaten Auskunft zu geben. Das Molekulargewicht des Dextran-Blau liegt bei ca. 2.ooo.ooo.

Bei Routineuntersuchungen von Intensivpatienten war uns aufgefallen, daß splenektomierte Patienten nach dextranhaltigen Plasmaexpandern stärkere Nierenveränderungen aufwiesen als nichtsplenektomierte Patienten. Um die Folgen parenteraler Gaben hochpolymerer Stoffe nach Entfernung der Milz zu prüfen, führten wir unsere Versuche parallel an nichtsplenektomierten und splenektomierten Versuchstieren durch. Nach unseren Vorversuchen mit hochpolymeren Stoffen war zu erwarten, daß die Dextrane sich teilweise in den Endothelien z.B. der Nieren und Lungen ablagern würden. Es erschien wichtig, die Menge der retinierten polymeren Substanzen zu bestimmen und die genaue Lokalisation festzulegen.

Die Vorversuche ergaben eine gute Verträglichkeit bei intraperitonealer Injektion des Eisen-Dextran und des Dextran-Blau, während Tylose in höherer Dosierung toxisch wirkte.

2. Histologische und morphometrische Untersuchungen

2.1. Bisherige Untersuchungen

Von B a r g m a n n (1946) sind Beobachtungen, nach denen eine Speicherung von Periston in der Leber in den Kupffer'schen Sternzellen stattfindet, in der Milz vornehmlich in den Reticulumzellen, wobei die Lymphfollikel weitgehend ausgespart sind. S c h o e n beobachtete 1949 bei Kindern, daß nach Injektion von Periston (Molekulargewicht 38.000) in der Leber eine Schwellung der Kupffer'schen Sternzellen auftritt, in der Milz mit Polyvinylpyrrolidon beladene Reticulumzellen sowie eine Proliferation der RES-Elemente im Lymphknoten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen N e l s o n und L u s k y (1951), welche die intensivste Dextrananhäufung in RES-reichen Organen sahen. Bei höhermolekularen Polyvinylpyrrolidon-Fraktionen, also etwa solchen mit dem Molekulargewicht 55.000 oder 120.000 tritt einesteils eine Speicherung für Wochen und Monate ein, anderer-

seits eine verzögerte Ausscheidung, wie R a v i n et al.(1952) berichten. Von F r e s e n und W e e s e (1952) stammt eine Arbeit, nach der es bei i.v. Injektion einer Polyvinylpyrrolidon-Fraktion mit dem Molekulargewicht 35.000 bei Hunden und Kaninchen in den Reticulumzellen der Milz, in Lymphknoten und im Knochenmark zu Speicherungserscheinungen kommt. Bei Steigerung der injizierten Menge beluden sich Histiozyten der Nebennierenrinde und Hypophyse sowie die Alveolarzellen der Lunge. Weiter kam es zur hydropischen Schwellung der Hauptstücke des Nephrons. Weitere Beobachtungen von F r e s e n und W e e s e erstrecken sich auf das Vorhandensein von Polyvinylpyrrolidon mit dem Molekulargewicht 50.000 in den Alveolarzellen von Hunden und Katzen sowie auf eine nekrobiotische Schwellung und Verklumpung der Kapillarschlingen des Glomerulum bei Applikation einer Polyvinylpyrrolidon-Fraktion mit dem Molekulargewicht 400.000. H ü s s e l m a n n beobachtete 1952 bei Kindern noch zwei Jahre nach der Injektion eine Polyvinylpyrrolidon-Speicherung (Molekulargewicht 40.000) in den Kupffer'schen Sternzellen. G a l l berichtete 1953 mit Hilfe der Leberbiopsie beim Menschen über eine Polyvinylpyrrolidon-Speicherung (Molekulargewicht 40.000) in den Kupffer'schen Sternzellen noch sechs Monate nach der Injektion. Über Speicherung in der Leber berichtet auch W r a g e 1955. Demnach kommt es zu einer Aktivierung und Proliferation der Kupffer'schen Sternzellen bei hochmolekularem Polyvinylpyrrolidon. Niedermolekulares Polyvinylpyrrolidon werde hingegen auch von Hepatozyten gespeichert, aber schnell wieder abgegeben. Auch F r o m m e r (1956) sagt, daß die Kupffer'schen Sternzellen derjenige Anteil des RES seien, der höhermolekulares Polyvinylpyrrolidon speichert. Weitere Speicherungen erstreckten sich auf die Histiozyten des periportalen Bindegewebes. Mit steigendem Molekulargewicht komme es zur histologischen Alteration der Makrophagen in der Leber. Über Versuche mit einem i.p. gegebenen Gemisch von Methylzellulose und Carboxy-Methylzellulose bei Mäusen berichteten J u n g und B r i z i a r e l l i 1954. Danach kam es makroskopisch zu einer Vergrößerung von Milz und Leber. In der Milz ließ sich Methylzellulose und Carboxy-Methylzellulose in

den Reticulumzellen nachweisen. In der Leber waren es die Sternzellen, die durch die Speicherung auffielen. Im Folgenden bildeten dann Gruppen von Sternzellen kleine Retothelknötchen. Gleichzeitig war eine entzündliche Reaktion zu beobachten. Der Höhepunkt der Beladung lag bei etwa sieben Tagen nach der letzten Injektion. In den Nieren erschienen die Glomerulumkapillaren wie ausgegossen mit Methylzellulose und Carboxy-Methylzellulose und die Endothelien der Glomerula beladen; später kam es in den Glomerula zu einer Mesangiumspeicherung sowie zu einem an einen Kimmelstil-Wilson erinnerndes Bild. Ausgüsse der Kapillaren sah man auch in der Lunge. G u r w i t c h legte 1958 Beobachtungen an splenektomierten- und Normalkaninchen nach i.v. Applikation von Dextran vor. Danach ist eine erheblich größere Retention von Dextran im Blut der Splenektomietiere im Vergleich zu den Normaltieren nachweisbar. Nach Untersuchungen von H e i n l e i n und H ü b n e r (1958) findet die Polyvinylpyrrolidon-Speicherung in der Milz perifollikulär statt, in der Leber in den Kupffer'schen Sternzellen, in der Niere in den Tubulusepithelien sowie in der Lunge peribronchial und perivasculär. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von L i n d n e r und G u s e k (196o) geben Aufschluß über Veränderungen an Zellorganellen des Lymphknotens nach subcutaner Dextranzufuhr. Demnach kam es bei Aufnahme makromolekularer Stoffe in das RES zum Auftreten kleinster Bläschen an der Innenseite der Zellmembranen. In der Folge entstand eine vacuolige Ausweitung des endoplasmatischen Reticulums. Weiterhin kam es zu einer Anschwellung der Mitochondrien mit Auflösung ihrer Struktur, Konfluenz miteinander und mit dem endoplasmatischen Reticulum. S c h u b e r t und W e r n e r berichteten 196o über Versuche an Meerschweinchen, bei denen niedermolekulares Polyvinylpyrrolidon (Molekulargewicht 12.5oo) nach s.c. Applikation innerhalb kürzester Zeit zu 78 % wieder ausgeschieden wurde. Nach Beifügen von Hyaluronidase betrug die Ausscheidung 92 %. Von M o h n (196o) stammt eine Arbeit über Speicherung von höhermolekularem Polyvinylpyrrolidon in Lymphknoten und Milz bei Ratten. Danach benötigt Polyvinylpyrrolidon mit

dem Molekulargewicht 34.ooo elf Monate um aus der Milz wieder eliminiert zu werden. J o z s a et al. (1962) fanden Dextran nach i.v. Injektion im Zytoplasma der Leberzellen in Form von Dextrangranula sowie in den Sternzellen. Weiter fanden sie Dextran im Endothel der Glomerulumkapillaren, im Epithel der Bowman'schen Kapsel, in den Tubuli contorti I sowie in den Basalmembranen. In der Milz fanden sie Dextrangranula vor allen Dingen in den Sinusendothelzellen sowie auch in Reticulumzellen. In den Lymphknoten waren Dextranablagerungen in großen reticulären Elementen mit vacuolisiertem Plasma und hellem Kern zu sehen. J a m e s und A s h w o r t h (1961) wiesen ebenfalls Dextran in den gewundenen Kanälchen, im Endothel der Glomerulumkapillaren sowie in den Bowman'schen Kapseln elektronenmikroskopisch nach. A s h w o r t h und J a m e s (1961) beobachteten nach i. p. Injektion von menschlichem Serum-Albumin verdickte Glomerulumkapillarendothelien sowie eine Speicherung von Albumin und eine morphologische Veränderung der Epithelien in Form einer Zytoplasmaschwellung und lokaler Verschmelzung oder Verschwinden der Fußfortsätze. Von N o v e l l o und W e s s e l sind elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Niere (1963). Danach kommt es zunächst zu einer Vacuolisierung der Kapillarendothelien der Glomerula. Es folgt eine Phase, in der die Kapillaren dilatiert und mit Methylzellulose und Carboxy-Methylzellulose angefüllt sind und endlich eine Phase, in der die Epithelzellen morphologisch eine Schädigung aufweisen. Gleichzeitig setzte in Folge der Permeabilitätssteigerung der Übertritt von Methylzellulose und Carboxy-Methylzellulose in den Kapselraum ein. Von H a l l und H a l l stammen Untersuchungen (1962), denen zufolge es nach i.p. Applikation von Methylzellulose bei splenektomierten Ratten schneller bzw. leichter zum Hochdruck und zur Hypertrophie von Niere, Leber und Herz kommt als bei nichtsplenektomierten Ratten. C a b a n n e et al. (1969) sowie L a c h a p e l l e (1966) sprechen von Speicherungen im RHS sowie von einer regelrechten Polyvinylpyrrolidonkrankheit bei einem Molekulargewicht von über 3o.ooo bzw. 4o.ooo und vergleichen sie

mit einer Thesaurismose. Die Untersuchungen von M e i j e r und W i l l i g h a g e n (1963) erstrecken sich auf Fermentveränderungen in der Leber und stellen fest, daß es nach Dextranzufuhr zu Lebervergrößerungen sowie zur Dextranspeicherung in Stern- und Parenchymzellen kommt (Fraktionen mit einem mittleren Molekulargewicht von 2oo.ooo.) Die Speicherung war acinuscentral größer als in der Peripherie. G ä r t n e r et al. kamen 1968 zu dem Ergebnis, daß die Glomerulumkapillaren nur Polyvinylpyrrolidon-Moleküle bis 25.ooo in das Ultrafiltrat bei Ratten und Kaninchen übertreten lassen. Die postglomerulären Kapillaren hingegen gestatten den Übertritt in das Interstitium von drei verschiedenen Molekülen, nämlich solche von 11.5oo, 11o.ooo und 65o.ooo. M a r e k legte 1969 Untersuchungen an Ratten vor, nach denen 6 % einer Polyvinylpyrrolidon-Fraktion (Molekulargewicht 3o.ooo) nach 48 Stunden in der Milz zu finden war, 23,5 % in der Leber, 11,5 % in den Muskeln, 1,8 % in den Nieren, o,7 % in der Lunge sowie 1,8 % im Blut. Wurde die Dosis erhöht, speicherte die Milz relativ mehr.

2.2. Material und Methode

Die Versuche wurden an insgesamt 162 weiblichen und männlichen Ratten durchgeführt.

1. Eisen-Dextran (Molekulargewicht 5.ooo - 7.5oo)

An fünf aufeinander folgenden Tagen wurden jeweils 1,5 ml Imferon i.p. gespritzt. Insgesamt 54 Ratten kamen in den Versuch, von denen 27 splenektomiert waren. Nach 2, 4, 8, 12 Stunden sowie nach 1, 7, 14, 28 und 42 Tagen im Anschluß an die 5., d. h. letzte Injektion, wurden jeweils drei splenektomierte- und drei nichtsplenektomierte Ratten getötet.

2. Tylose (Molekulargewicht 1oo.ooo)

Wegen der Toxizität der Tylose aber auch wegen der hohen Viscosität wurden die Tylosegaben stärker fraktioniert. An 15 Tagen wurden insgesamt 1ooo mg pro Ratte i.p. gespritzt. Insgesamt

6o Ratten waren im Versuch, davon 3o splenektomierte Ratten. Die Tötung der Ratten erfolgte 2, 4, 8, 12 Stunden sowie 7, 14, 21, 28, 42 und 56 Tage nach der letzten Injektion.

3. Dextran-Blau (Molekulargewicht 2.ooo.ooo)

An 1o aufeinander folgenden Tagen wurden je 2 ml einer 5 %igen Lösung i.p. injiziert. Die Gesamtmenge betrug 1ooo mg pro Ratte. Die Versuche wurden an 48 Ratten durchgeführt, von denen 24 splenektomiert waren. Die Tötung erfolgte 2, 4, 8, 12 Stunden sowie 1, 2, 4,und 8 Wochen nach der letzten Injektion.

Um die Einengung der Strombahn infolge der Speicherung der Substanzen in den Endothelien bzw. in den Uferzellen der parenchymatösen Organen zeigen zu können, wurden die Ratten kurz vor der Tötung liqueminisiert um postmortale Thrombosebildung zu verhindern. Nach der Tötung wurde dann zunächst das Blut mit physiologischer Kochsalzlösung herausgespült, und zwar für die Bauchorgane durch die Aorta kurz oberhalb des Zwerchfells und für die Lunge über das Herz nach Abklemmung der absteigenden Aorta. Danach wurde gleich die Injektion mit einem Tusche-Mikropaque-Latex-Gemisch angeschlossen. Nach der Entnahme wurden die Organe dann in Formalin (37 %)-Alkohol (1:9) fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet.

An histiologischen Schnitten wurden routinemäßig HE- und PAS-Färbungen durchgeführt. Als Spezialfärbungen benutzten wir für den Nachweis der Tylose eine von uns entwickelte Indanthrenfärbung des Gewebes (s.u.) und für das Dextran-Blau eine Giemsa-Färbung. An den histiologischen Schnitten wurde die Verteilung der drei polymeren Substanzen, ihre Mengenzu- bzw. Mengenabnahme beschrieben.

Morphometrie

Um die an den speichernden Zellen und Geweben ablaufenden Veränderungen quantitativ zu erfassen, führten wir morphometrische Messungen durch. Sie betrafen in der Niere den relativen Volumenanteil des Tubulusepithels und des Tubuluslumens, des Kapil-

larkonvoluts der Glomerula, der Bowman'schen Kapselräume, des Interstitium und der Arterien und Venen.

An den Leberzellen wurde die Zahl der Sternzellen pro Quadratcentimeter des histologischen Schnittes bestimmt um ein Maß für die Reizung bzw. Aktivierung der Sternzellen durch diese Fremdstoffe zu gewinnen. Bei einer Schnittdicke von 5 µ, die sich mit dem Leitz-KS-Objektiv (1oo x) bis auf o,16 µ genau bestimmen läßt, lag die Zahl der Sternzellen pro Quadratcentimeter bei 88o.

Beim Eisen-Dextran und bei der Tylose wurden Bestimmungen der injizierten Substanz mit photometrischen Methoden nach zwei- und sechswöchiger Versuchsdauer durchgeführt um eine quantitative Beziehung für die Menge der pro Organ gespeicherten Substanz zu erhalten. Die Bestimmung des Eisen-Dextrans erfolgte an jeweils einem Gramm Nieren-, Leber- und Milzgewebe nach folgender Methode: Ein Gramm Gewebe wird mit fünf Milliliter NaCl (physiologische Kochsalzlösung) versetzt und homogenisiert. Nach einer Stunde wird ein Milliliter einer 2o %igen Trichloressigsäurelösung hinzugegeben und filtriert. Zu dem Filtrat wird ein Milliliter einer 2 %igen Kaliumferrocyanidlösung hinzugefügt und nach zehn Minuten wird im Photometer abgelesen.

Indanthren-Blau-Färbung

Wir gaben zunächst die entparaffinierten Schnitte fünf Minuten in den Sörensen-Puffer bei pH 8,o, sodann 3o Minuten in eine 2 %ige alkalische Indanthren-Blau-Lösung und schließlich wurde 3o Minuten in Aquadest gespült. Anschließend erfolgte die Kernfärbung mit Kernechtrot fünf Minuten und nach erneutem Abspülen mit Aquadest wurden die Präparate in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und anschließend mit Eukitt eingedeckt.

2.3. Histologische Untersuchungen

2.3.1. Eisen-Dextran

Das Eisen-Dextran wurde von den Versuchstieren sehr gut vertragen. Nach den ersten Injektionen in den Peritonealraum waren das viscerale und parietale Blatt des Peritoneums braun gefärbt. Die Resorption des gelösten Eisen-Dextrans erfolgte relativ schnell. Bei der Obduktion der Tiere waren die Organe, vor allem Leber und Niere braun gefärbt.

2.3.1.1. Leber

Bei den kurzfristig nach der letzten Injektion (2, 4, 8, 12 Stunden) getöteten Tieren fällt an der Leber auf, daß die Eisen-Dextran-Ablagerungen vor allem im Bereich der Kapsel und im subkapsulären Lebergewebe liegen, wohl als Folge der Diffusion in das Lebergewebe hinein. Die Ausbreitung erfolgt außerdem entlang größerer Septen, die bis zur Kapsel hinziehen. Das Eisen-Dextran hat offenbar in dieser Konzentration eine zytotoxische Wirkung, da die subkapsulären Leberanteile keine Kernfärbung mehr erkennen lassen.

Die Sinusoide sind gewissermaßen imprägniert von Eisen-Dextran. Die Sternzellen sind bereits aktiviert und beginnen zu proliferieren (Abb. 1). Die Zentralvenen und die Portalvenenäste sowie die Äste der arteria hepatica enthalten reichlich Eisen-Dextran. In einigen Präparaten beginnen auch die Leberzellen in feinkörniger Form zu speichern (Abb. 2).

Einen Tag nach der letzten Injektion findet man ungewöhnlich große Sternzellen, die das Eisen-Dextran grobschollig gespeichert haben. Die Sinusoide sind deutlich eingeengt, so daß sie sich kaum mit Tusche injizieren lassen (Abb. 3). Die Leberzellen haben das Eisen-Dextran fein- bis mittelkörnig gespeichert. Es fällt jetzt eine beginnende ödematöse Schwellung der Leberzellen auf, die im Paraffinpräparat eine Dissoziation der Leberzellen vortäuscht.

Eine Woche nach der letzten Injektion sieht man histologisch Sternzellen, die zu Riesenzellen angewachsen sind, wobei benachbarte Sternzellen kleine Konglomerate bilden. Die Leberzellbälkchen weisen eine erhebliche Schwellung auf. Die Eisenspeicherung in den Leberzellen ist grobschollig. Sie erfolgt vor allem in der Mitte der Bälkchen. Selbst in einzelnen Kernen der Hepatozyten sieht man Eisen-Dextran-Ablagerungen in Form von sonst homogenen Einschlüssen, was an das Aussehen sogenannter Glykogenkerne erinnert. Insgesamt findet die massivste Eisenspeicherung in der intermediären Zone statt. Hinzu kommt jetzt eine massive Ausweitung der Äste der vena portae als Hinweis auf eine portale Hypertension. Entsprechend den ungewöhnlich starken Speicherungsvorgängen an Hepatozyten und Sternzellen in der Intermediärzone wird auch die Strombahn offenbar dort eingeengt, wie die Tuscheinjektion zeigt. Die Tuscheteilchen scheinen vor allem im Bereich der Disse'schen Räume zu liegen.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion ergeben sich keine großen Unterschiede gegenüber den Präparaten nach einer Woche. Andererseits treten jedoch jetzt bei den splenektomierten Tieren aus benachbarten Sternzellen gebildete Konglomerate sehr in den Vordergrund. Die Tusche läßt sich nicht injizieren, so daß hier ein Tuschestop zwischen Periportalfeld und Läppchensinus besteht.

Vier Wochen nach der letzten Injektion ist die Speicherung weiter fortgeschritten. Sie hat an einigen Stellen zu einer erheblichen Schädigung der Acinuszentren mit acinuszentralen, anoxischen Verfettungen geführt. Gleichzeitig tritt in den Acinuszentren eine deutliche Atrophie der Leberzellbälkchen und gleichermaßen ein Schwund der Sternzellen auf (Abb. 4). In einzelnen Acini sieht man in den Zentren einen vollständigen Schwund der Leberzellbälkchen mit Ausbildung großer Tuscheseen. Im typischen Fall erkennt man eine regelrechte Kokardenbildung von folgendem Aussehen: Die periphere Läppchenzone zeigt eine starke Siderose sowohl der Sternzellen als auch der Leberzellen. Es folgt dann eine Zone mit stark erweiterten, tuscheinjizierten Sinusoiden.

Hin und wieder kommt es zur Ausbildung richtiger Stauungsstraßen. Im Zentrum sieht man dann die Atrophie bzw. die beginnende Regeneration der Leberparenchymzellen mit praktisch fehlender Eisenspeicherung (Abb. 5, 6).

Sechs Wochen nach der letzten Injektion sind im Gegensatz zu den früheren Stadien die ausgefallenen Leberzellen wieder durchweg ersetzt durch Regenerate, die sich jedoch strikt an die Läppchentextur halten (Abb. 7). Es erfolgt somit hier eine restitutio ad integrum. Die Eisenspeicherung sowohl in den Kupffer'schen Sternzellen als auch in den Leberzellen ist an den Stellen stärker, wo die Sinusoide offen und mit Tusche gefüllt sind. Je enger die Sinusoide sind, desto geringer ist die Eisenspeicherung in den Parenchymzellen.

Abb. 1: Eisen-Dextran, Leber, 4 Stunden nach der letzten Injektion bzw. 5. Tag nach Beginn der Versuche. Vermehrung, Aktivierung und Eisen-Dextran Speicherung der Sternzellen.

Abb. 2: Eisen-Dextran, Leber, 12 Stunden nach der letzten Injektion bzw. 5. Tag nach Beginn der Versuche. Grobkörnige Speicherung des Eisen-Dextrans in den Sternzellen, feinkörnige Speicherung in den Leberzellen. Die in die Strombahn injizierte Tusche füllt die Sinusoide vollständig aus.

Abb. 3: Eisen-Dextran, Leber, 1 Tag nach der letzten Injektion. Grobkörnige Speicherung in den Sternzellen*, feinkörnige in den Leberzellen. Leberzellen geschwollen, Sinusoide komprimiert, mit Tusche schwer injizierbar.

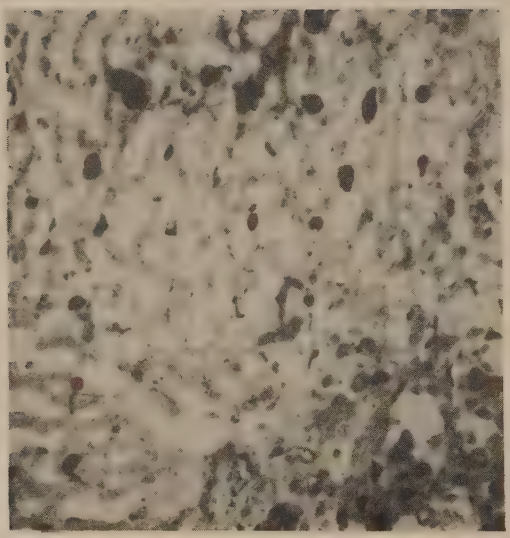


Abb. 4: Eisen-Dextran, Leber, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Starke Ausweitung der Sinusoide im Acinuszentrum mit Atrophie der Leberzellbälkchen, Verminderung der Sternzellen.

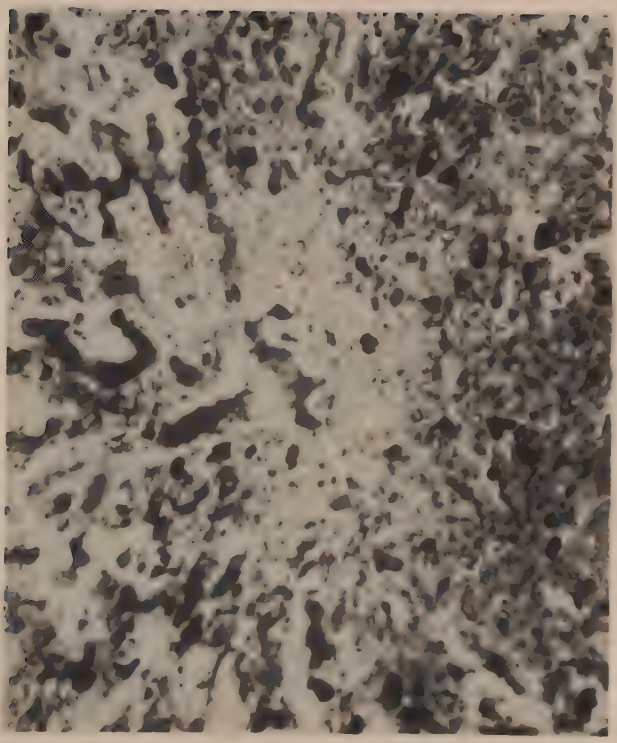


Abb. 5: Eisen-Dextran, Leber, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Erweiterung der Zentralvene, die mit Tusche injiziert ist. Regenerierte Leberzellen im Acinuszentrum ohne Speicherung von Eisen-Dextran. Deutliche Verminderung der Sternzellen im Acinuszentrum, intensive Ansammlung von Sternzellen in der Intermediärzone des Läppchens mit Dilatation der stark tuscheinjizierten Sinusoide.

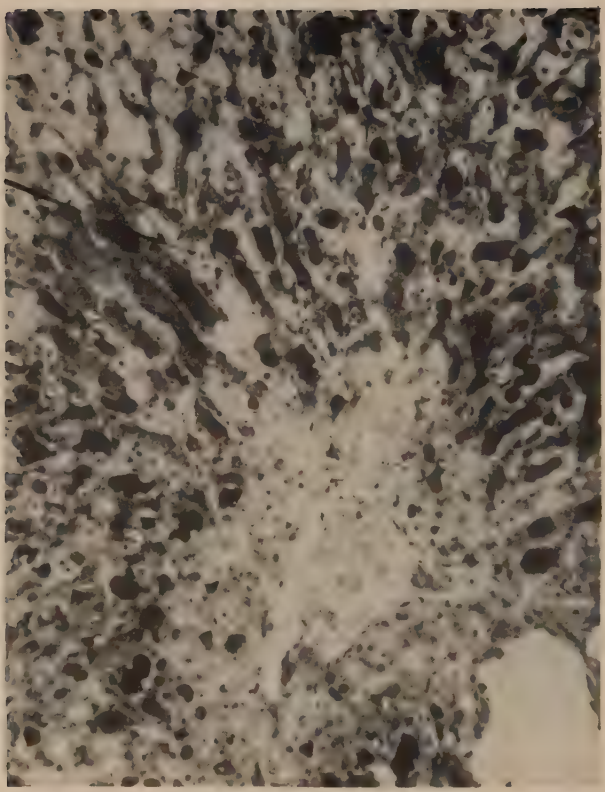


Abb. 6: Eisen-Dextran, Leber, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Im Zentrum Regeneratzellen nach vorausgegangenen zentralen Gruppennekrosen, in der Intermediärzone Atrophie der Leberzellbälkchen bei gleichzeitiger Ausweitung der Sinusoide, die stark mit Tusche injiziert sind. Gleichzeitig dichte Ansammlung von speichernden Sternzellen.

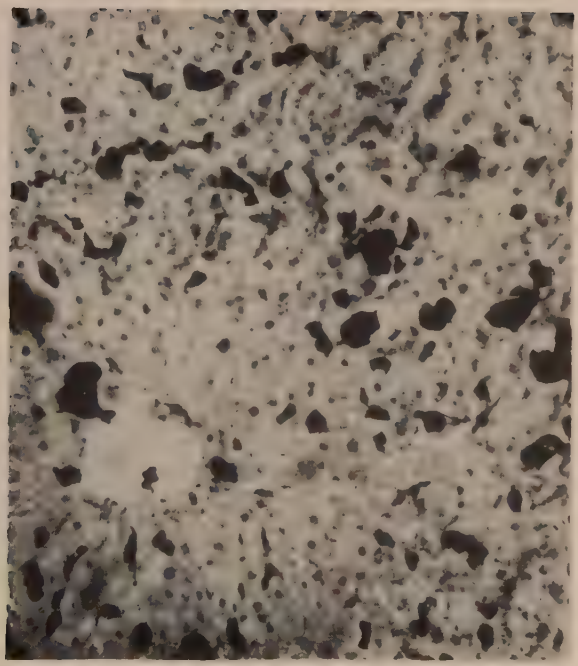


Abb. 7: Eisen-Dextran, Leber, 6 Wochen nach der letzten Injektion. Weitgehend abgeschlossene Regeneration der Leberzellen in den Acinuszentren, Ausweitung der Sinusoide in der Intermediärzone, fast fehlende Eisen-Dextran Speicherung in den regenerierten Leberzellen, hingegen starke Speicherung in der Intermediärzone und der Peripherie des Läppchens.

2.3.1.2. Milz

Bei den kurzfristig (2 - 12 Stunden) nach der letzten Injektion getöteten Tieren zeigt sich, daß Eisen in großen Mengen etwa 100 µ tief durch die Kapsel in das Parenchym diffundiert.

Einen Tag nach der letzten Injektion haben sich die Reticulumzellen voll mit Eisen beladen, während die Keimfollikel ausgespart bleiben. Bei der Speicherung sieht man eine ganz charakteristische Anordnung: außen speichert das Reticulum bzw. die weiße Pulpa sehr gut; es folgt dann ein Ring von jungen Lymphozyten mit nur einzeln eingelagerten Reticulumzellen und dann direkt um das Keimzentrum herum ein Ring speichernder Reticulumzellen, fast in Palisadenstellung. (Abb. 8)

Eine Woche nach der letzten Injektion ist die Speicherung in den Reticulumzellen merkwürdigerweise außerordentlich gering. Etwas stärker ist die Eisenspeicherung um die größeren Arterien und Venen herum, so wie man es bei den Eisen-Kalk-Inkrustationen der Gamna-Gandy-Körper im Rahmen eines Banti-Syndroms sieht. Das lockere perivasculäre Bindegewebe erscheint geradezu mit Eisen überflutet. Eigentümlich ist die Tuschespeicherung, die in den Kapillaren des Gitterfasergerüstes erfolgt, während die eigentlichen Sinus frei von Tusche sind.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion sind die Reticulumzellen voll gestopft mit Eisen. Die rote Pulpa der Milz ist überflutet von Eisen, welches hier in Reticulumzellen gespeichert wird. Die Keimzentren sind weitgehend ausgespart. In ihrem Inneren sieht man nur vereinzelt speichernde Reticulumzellen. Als besondere Struktur findet man ringförmig um die Keimzentren herum ein Netz von Kapillaren, welche mit Tusche gefüllt sind.

Sechs Wochen nach der letzten Injektion sind die eisenspeichernden Reticulumzellen herdförmig zusammengelagert. Aus der vorher diffus erscheinenden Eisenspeicherung ist jetzt also eine ausgesprochen herdförmige geworden.

Abb. 8: Eisen-Dextran. Milz. 2 Wochen nach der letzten Injektion. Diffuse Speicherung in der roten Pulpa. Ausschließliche Speicherung von Eisen-Dextran in den Reticulumzellen, die ringartig in der Außenzone der Lymphfollikel lokalisiert sind.

2.3.1.3. Niere

In den Präparaten der kurzfristig (2, 4, 8, 12 Stunden) nach der letzten Injektion getöteten Tiere erkennt man eine starke Ablagerung von Eisen-Dextran in den Podozyten, die im übrigen erheblich geschwollen sind, so daß das Kapillarkonvolut die Bowman'sche Kapsel vollständig ausfüllt (Abb. 9). Die Eisenablagerungen finden sich vor allem auch in den Basalmembranen, insbesondere denen der Glomerula. Offenbar hat das Eisen-Dextran eine starke Affinität zu den Mucopolysacchariden der Basalmembranen. Weiter erkennt man Ablagerungen im Interstitium entlang der intertubulären Kapillaren und ganz wenig auch in den Epithelien der tubuli contorti I (Abb. 1o). Auffällig ist ferner eine starke Eisenansammlung im Bereich der Lymphbahnen und entlang der Sammelrohre. Als Hinweis auf die Ausscheidung des Eisen-Dextran findet man eisenpositive Zylinder im Lumen der Sammelrohre. Weiterhin sieht man auch Eisenablagerungen entlang der Kapillaren im Markbereich und vor allem im Interstitium des Markes. Das im Blut kreisende Eisen-Dextran stellt sich auch in den Lumina der venösen und arteriellen Gefäße dar.

Ein Tag nach der letzten Injektion fällt in den Glomerula auf, daß an den Stellen, an welchen eine starke Eisenspeicherung erfolgte, die Füllung der Kapillaren deutlich herabgesetzt ist, so daß sich hier ein konkurrierendes Verhalten zwischen Kapillarfüllung, d.h. Durchblutung des Kapillarkonvoluts und Eisenspeicherung in Endothelien und Podozyten feststellen läßt. Eine Eisenspeicherung beobachtet man weiter in Perizyten und Makrophagen des Markinterstitiums. Daneben sieht man auch, daß eisenhaltiges Material ausgeschieden wird. Es zeigt sich, daß vor allem auch entlang der Lymphbahnen des Markes das Eisen-Dextran transportiert wird und das Lymphsystem des Markes dabei wesentlich stärker beteiligt als das der Rinde ist.

Bei den splenektomierten Tieren ist eine wesentlich stärkere Eisenspeicherung im Kapillarkonvolut der Glomerula festzustellen als bei den nichtsplenektomierten Tieren. Die Eisenspeicherung bezieht sich nicht nur auf die Podozyten, sondern auch auf das Mesangium. Bei der Gefäßinjektion stellt sich heraus,

daß ein viel größerer Teil der Schlingen mit Tusche nicht injiziert werden kann, d. h. in vivo nicht durchblutet ist. Als Antwort auf die Mesangiumspeicherung stellt sich in einigen Glomerula bereits eine beginnende Zellproliferation ein.

Eine Woche nach der letzten Injektion erfolgt die Eisen-Dextran Ablagerung in speichernden interstitiellen Zellen, vor allem der Glomerula. Mit den KS-Objektiven läßt sich die Eisenablagerung im Mesangium gut lokalisieren. Selbst bei stärkster Eisenspeicherung ist jedoch die Durchgängigkeit der Glomerulumkapillaren hier offenbar nicht beeinträchtigt. Das niedermolekulare Eisen-Dextran wird hier also nicht in den Endothelien gespeichert. Weiterhin finden sich streifenförmige Eisen-Dextran Ablagerungen im Interstitium der Nierenrinde sowie auch eine feintropfige Speicherung in den Tubuluszellen in geringerem Maße. Starke herdförmige Ablagerungen sind dagegen im Interstitium an der Rindenmarkgrenze vorhanden, und zwar gerade am Umschlagpunkt der Henle'schen Schleife. Tiefer im Mark, im unteren Drittel der Papillen, sieht man nur eine ganz geringe interstitielle Eisenspeicherung. Die Schwerpunkte der Ablagerung liegen also in den Glomerula und am Scheitelpunkt der Henle'schen Schleife.
Bei den Splenektomiepräparaten zeigt sich weiter eine diffuse Eisendurchtränkung der Bowman' schen Kapsel. Infolge der Zellproliferation sind hier verschiedene Veränderungen in den Glomerula zu erkennen: Einmal ist es verschiedentlich zu Synechien gekommen, zum anderen findet man eine deutliche Lobulierung des Kapillarkonvoluts und drittens eine starke, an eine postakute proliferierende Glomerulonephritis erinnernde Proliferation. (Abb. 11). Es zeigt sich, daß eine Substanz, die stark gespeichert wird, doch zu Dauerschäden in der Niere führen kann. Eine diffuse Eisenspeicherung findet man weiterhin in den tubuli contorti I, während die tubuli contorti II weitgehend frei von Eisen sind.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion zeigt sich eine deutliche Abnahme des Eisen-Dextrans in den Glomerula; dabei betrifft die

Speicherung mehr die Mesangiumzellen, weniger hingegen die Basalmembranen. Im Interstitium um die intertubulären Kapillaren hat jetzt eine ausgesprochen schollige Umwandlung des Eisen-Dextrans stattgefunden. Neben den tubuli contorti I speichern nunmehr auch die tubuli contorti II in geringen Mengen. In der Henle'schen Schleife und in den Sammelröhren sieht man abgeschilferte Epithelzellen, die diffus blau angefärbt sind und Eisen enthalten. Weitere Speicherungen finden sich in den Epithelzellen des Nierenbeckens sowie in den Makrophagen des kapsulären und hilären Fettgewebes in grobscholliger Form.

Vier Wochen nach der letzten Injektion liegt das Eisen-Dextran vor allem fein verteilt in den Glomerula. Diese sind zu etwa 9o % mit Tusche gefüllt, das einzelne Glomerulum durchschnittlich zu 7o %. Innerhalb der Glomerula erfolgt die Eisenspeicherung im Mesangium und in den Podozyten. Die Stellen mit der besonders starken Eisenspeicherung lassen Synechien mit Schlingen und partiellen Kapselverödungen erkennen. Das Bild der Glomerula erinnert dabei gelegentlich an eine Herdnephritis mit Schlingennekrosen. In einzelnen Präparaten wird der Mechanismus, der zur Entstehung der Synechien führt, deutlich: Hier liegen kleine fibrinoide Spitzenkappen als Folge des Durchtritts von fibrinoidem Material durch die Basalmembran des Kapillarkonvoluts vor (Abb.12,13). Teilweise haben sich sogar regelrechte Halbmonde gebildet (Abb. 14), die an eine extrakapilläre Glomerulonephritis erinnern. Eine starke Speicherung lassen auch die Endothelien der intertubulären Kapillaren erkennen. Eisenhaltiges Material sieht man ferner in den Kapselräumen und in geringer, feinkörniger Verteilung auch in den tubuli contorti I.

Sechs Wochen nach der letzten Injektion klingt die Eisen-Dextran Speicherung wieder ab. Die Glomerula enthalten nur noch einzelne große Depots.

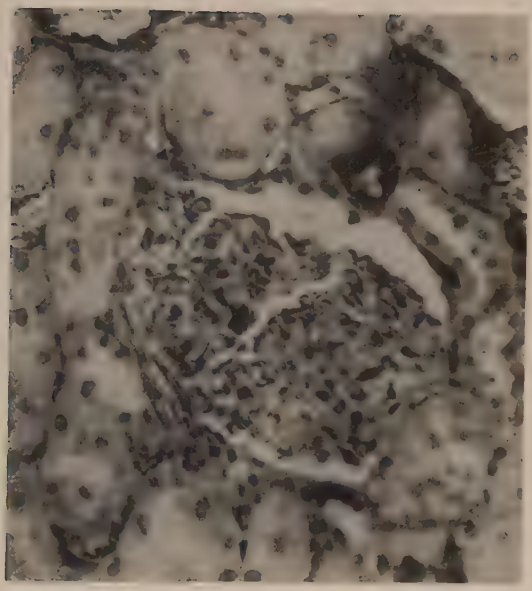


Abb. 9: Eisen-Dextran, Niere, 4 Stunden nach der letzten Injektion. Speicherung in den Basalmembranen der Glomerula in feinkörniger Form sowie auch in den Basalmembranen der tubuli.

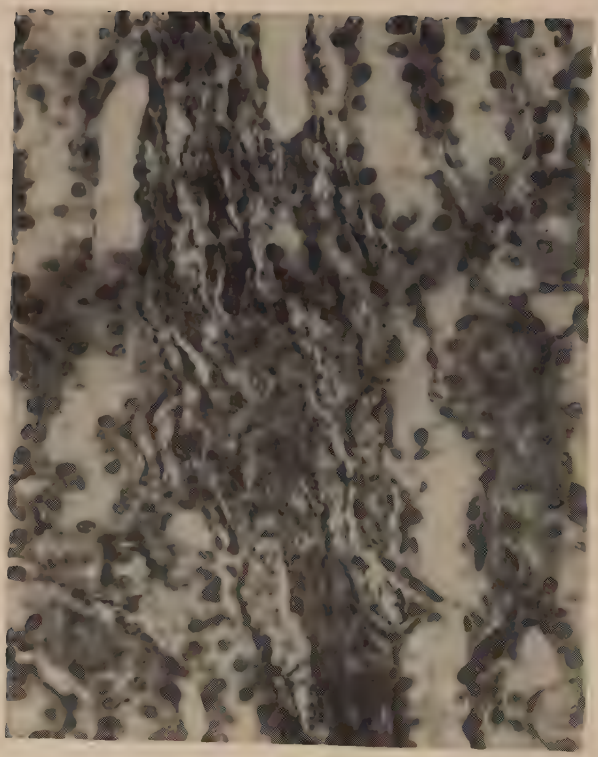


Abb. 10: Eisen-Dextran, Niere, 4 Stunden nach der letzten Injektion. Feinkörnige Einlagerungen des Eisens in die Basalmembranen der Kapillaren.

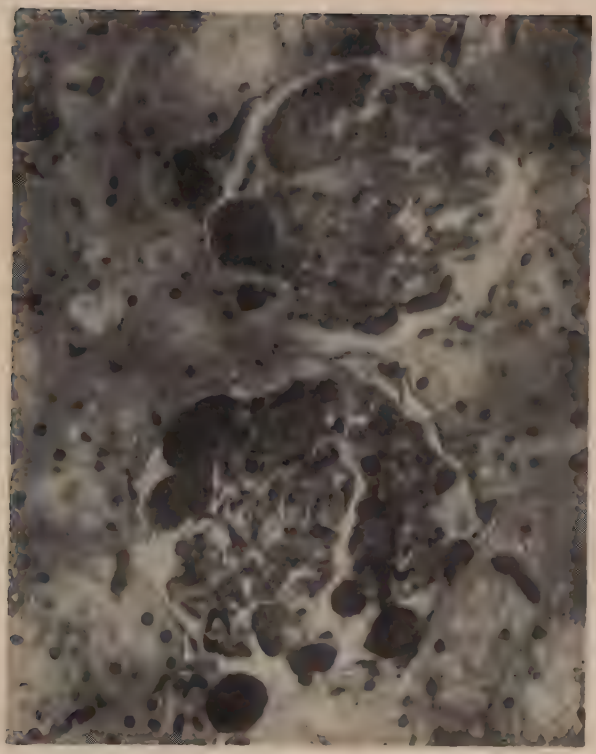


Abb. 11: Eisen-Dextran, Niere, 1 Woche nach der letzten Injektion. Speicherung des Eisen-Dextrans vorwiegend in Podozyten und im Mesangium, Proliferation der Mesangium- und Endothelzellen sowie der Podozyten. Im Bereich der Proliferation ist keine tuscheinjizierte Nierenstrombahn nachweisbar.

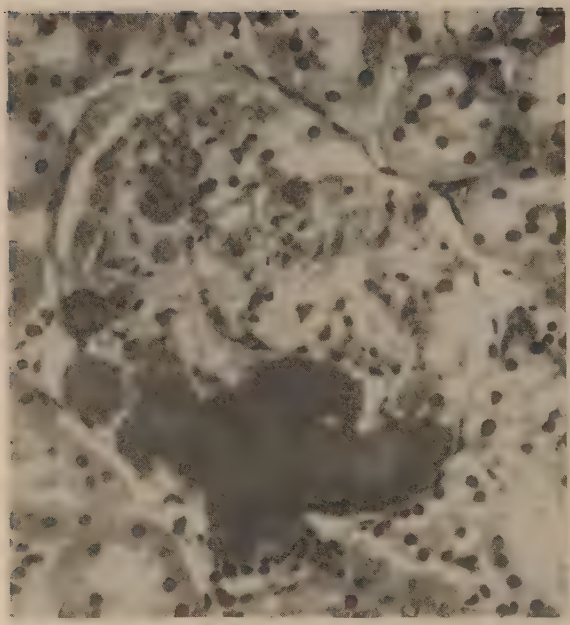


Abb. 12: Eisen-Dextran, Niere, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Verquellung der Basalmembranen, Eisen-Dextran Speicherung in Podozyten und Mesangiumzellen, fibrinoides Material im Kapselraum, Synechien, Verlust der normalen Lobulierung des Konvoluts, aneurysmatische Erweiterung der Kapillarschlingen unmittelbar am Gefäßpol, die übrigen Abschnitte des Konvoluts kaum mit Tusche gefüllt. Tuschefüllungsstop am Übergang von Gefäßpol zu Kapillarverzweigungen.

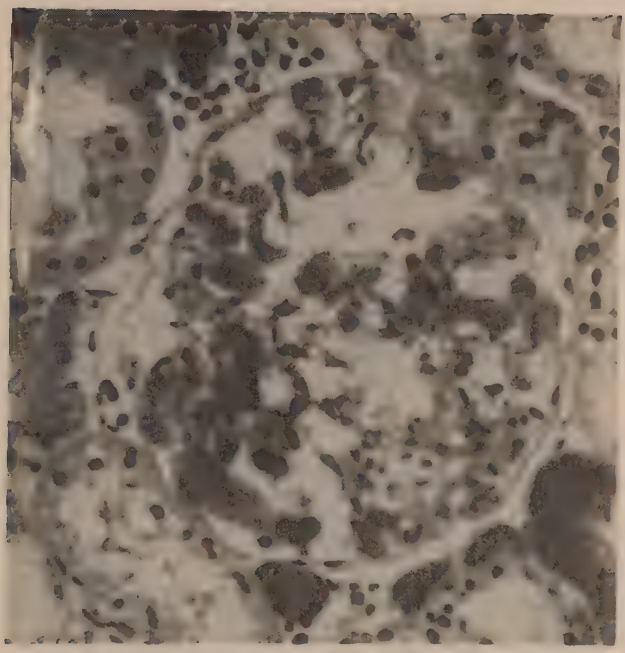


Abb. 13: Eisen-Dextran, Niere, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Breite Verklebungen des Kapillarkonvoluts mit der Bowman' schen Kapsel, Proliferation der ortsständigen Zellen, fibrinoides Material im Kapselraum, Eisen-Dextran Speicherung vorwiegend in Podozyten, geringe Tuschefüllung einzelner Glomerulumkapillaren in der Nähe des Gefäßpols.

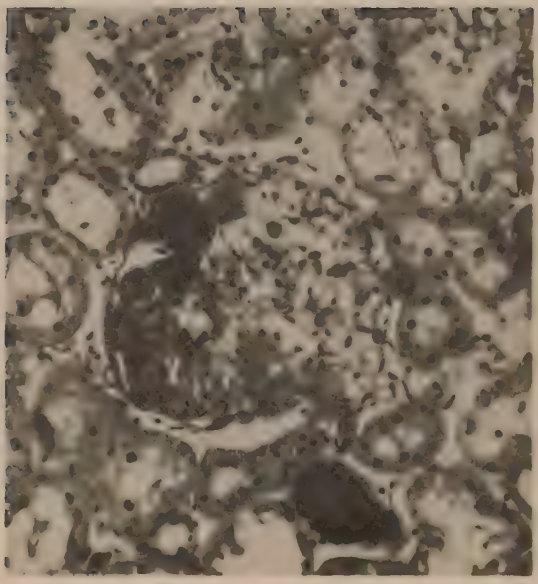


Abb. 14: Eisen-Dextran, Niere, 4 Wochen nach der letzten Injektion. Die starke Zellproliferation des Kapillarkonvoluts und die breite Verklebung mit der Bowman' schen Kapsel täuscht hier eine Halbmondbildung vor, wie man sie sonst als Wucherung der Kapselendothelien bei einer extrakapillären Glomerulonephritis findet.

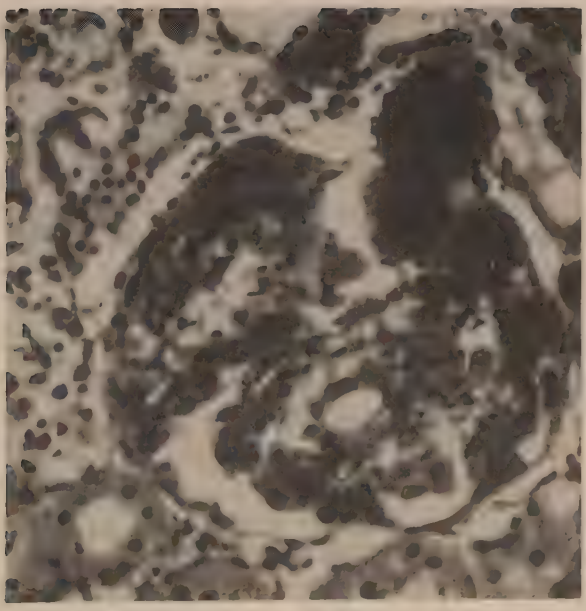


Abb. 15: Eisen-Dextran, Niere, 6 Wochen nach der letzten Injektion. Proliferation der ortsständigen Zellen, Eisenspeicherung in Podozyten und Mesangiumzellen, breitbasige Kapselverklebungen.

2.3.1.4. Lunge, Herz, Pankreas

Lunge

Eine Woche nach der letzten Injektion beobachtet man in der Lunge eine Eisenspeicherung lediglich im lockeren perivasculären Bindegewebe. Die Lungenstrombahn wird durch das Eisen-Dextran nicht wesentlich beeinflußt. Eisen wird hier kaum gespeichert.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion findet man Eisenspeicherungen vor allem im perivasculären Bindegewebe in Makrophagen in grobschölliger Form. Das Besondere an den Lungenpräparaten liegt darin, daß man eisenspeichernde Alveolarzellen in den Alveolen findet. Die Alveolarzellen haben sich abgelöst, erscheinen vacuolär-degenerativ verändert und besitzen das Aussehen von sogenannten Herzfehlerzellen. Dieser Befund beweist, daß Eisen-Dextran offenbar durch die Kapillarwände der Lunge in die Alveolen hineindiffundiert.

Vier Wochen nach der letzten Injektion sieht man Eisen lediglich im lymphoreticulären Gewebe in der Umgebung von Bronchien und in der Adventitia von Gefäßen gespeichert.

Herz

Sechs Wochen nach der letzten Injektion sieht man in der Herzmuskulatur Eisen-Dextran speichernde Kapillarendothelien.

Pankreas

Zwei Wochen nach der letzten Injektion erfolgt die Eisenspeicherung im Pankreas in Makrophagen des Interstitiums in grobschölliger Form.

2.3.2. Tylose

Die Tylose war von den drei verwendeten Substanzen diejenige mit der größten Toxizität. Dieser Umstand geht möglicherweise zu Lasten der Molekülstruktur. Nach den ersten Injektionen bis mehrere Wochen nach Beendigung der Injektionen kamen insgesamt etwa 1/3 aller Tiere ad exitum. Sie mußten infolge dessen durch neue Tiere ersetzt werden. Bei der Obduktion erschienen alle Organe, insbesondere Leber, Niere und Milz vergrößert.

2.3.2.1. Leber

Eine Woche nach der letzten Injektion, d. h. am 22. Tag nach Beginn der Injektion findet sich eine starke Speicherung in den Sternzellen. Diese füllen die Sinusoide der Leber fast vollständig aus, wodurch die Tuschefüllung praktisch verdrängt wird.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion ist der Speichereffekt noch erheblich stärker und dementsprechend die Tuschefüllung der Sinusoide geringer. In den H. E.-Schnitten findet man eine Atrophie der Leberzellbälkchen durch die erheblich ausgedehnten Nester stark speichernder Sternzellen (Abb. 16). Gleichzeitig tritt aber auch ein mächtiges Ödem der Leberzellen auf, wobei die Sinusoide fadenförmig komprimiert werden, wie die Tuschefüllung zeigt.
Im histologischen Paraffinschnitt führt die Entwässerung der hydropisch geschwollenen Parenchymzellen zu einer Retraktion der Zellmembran von den Sinusoidwänden mit Bildung eines als Artefakt anzusehenden, stark erweiterten Disse'schen Raumes (Abb. 17). An einigen Stellen kommt es durch die stark speichernden und vermehrten Sternzellen herdförmig zu einem kompletten Abbau der Leberzellen.

Drei Wochen nach der letzten Injektion imponieren die Sternzellen als herdförmige Ansammlung in der intermediären Zone. Diese Sternzellherde erreichen mitunter einen Durchmesser von o,1 mm. Sie sind dabei dicht mit Tylose beladen. An den betroffenen Stellen werden die Leberzellbalken stark komprimiert,

die Sinusoide sind vollständig eingeengt und für Tusche nicht mehr durchgängig.

Sechs Wochen nach der letzten Injektion findet sich die Speicherung im Wesentlichen wiederum in den Kupffer'schen Sternzellen. Hier zeigt sich, daß Tylose mit einem Molekulargewicht von ca. 1oo.ooo nicht mehr in die Leberzellen hineingeht, ganz im Gegensatz zum Eisen-Dextran.

Acht Wochen nach der letzten Injektion ist die Speicherung in den Sternzellen zurückgegangen. Es haben sich hier jedoch regelrechte kleine Retothelknötchen gebildet.
Insgesamt erscheint die Speicherung in der Leber bei den splenektomierten Tieren deutlich größer als bei den nichtsplenektomierten.

2.3.2.2. Milz

Drei Wochen nach der letzten Injektion erfolgt die Speicherung der Tylose vor allem saumartig in der Randzone um die Lymphfollikel. Im übrigen speichern die Sinusendothelien offenbar mehr noch als die Reticulumzellen. Die Speicherung in der Milz ist nach 3 Wochen sehr stark und betrifft praktisch alle Strukturelemente mit Ausnahme der Mitte der Keimzentren. Die Hauptspeicherung erfolgt jedoch entlang der Trabekel in den größeren Sinus d. h. in den Sinusendothelien.

Acht Wochen nach der letzten Injektion erfolgt die Speicherung in einzelnen Reticulumzellen der Lymphfollikel.

Abb. 16: Tylose, Leber, 3 Wochen nach der letzten Injektion. Ansammlungen gewucherter und vermehrter Sternzellen mit erheblicher Speicherung von Tylose*, die dem Zytoplasma der Sternzellen ein wabiges Aussehen verleiht. Stark ausgeweitete Sinus, Atrophie der anliegenden Leberzellbälkchen. Fehlende Tuscheinjektion der Sinusoide im herdförmigen Speicherbereich.

Abb. 17: Tylose, Leber, 8 Wochen nach der letzten Injektion. In den Acinuszentren und in der intermediären Zone abwechselnd Ausweitung und Kollaps der Sinusoide bei gleichzeitiger starker hydropischer Schwellung der Leberzellen. Die Disse'schen Räume * deutlich ausgeweitet als Zeichen des Zellhydrops.

2.3.2.3. Niere

Drei Wochen nach der letzten Injektion sind etwa 4o % der Glomerula mit Tusche gefüllt, wobei das einzelne Glomerulum etwa 4o - 5o % Tusche enthält. Das Kapillarkonvolut der Glomerula ist hyperplastisch. Auffällig sind im Mesangium große Zellen mit pyknotischen Kernen, die reichlich Tylose gespeichert haben. Die Tylose stellt sich mit Indanthren in blaßblauer Farbe dar. Es sind vor allem auch die Endothelien sowie die Podozyten, welche die hochmolekulare Tylose speichern. Die speichernden Endothelien nehmen fast das ganze Kapillarlumen ein, so daß die Tuschefüllung deutlich vermindert ist (Abb. 18, 19). Die Speicherung erfolgt feinkörnig. Ein Teil der Tylose ist durch die Glomerulummembran hindurch in den Kapselraum gelangt bzw. weiter in die Tubuli. Dort wird sie von den Epithelien aufgenommen und gespeichert. An den Tubulusepithelien sieht man eine starke Vakuolenbildung und Auflockerung des Zytoplasmas.
Bei den splenektomierten Tieren sind die Glomerula ebenfalls sehr stark betroffen. Es kommt zu einer Art Drahtschlingenphänomen mit deutlicher Verdickung der Basalmembranen (Abb. 19) und einer Zellproliferation des Mesangiums. Es sind hier vor allem die Endothelien, die im Gegensatz zum Eisen-Dextran die Tylose speichern. Diese starke Speicherung in den Endothelien wird vor allem im Indanthrenschnitt sichtbar. Die stark speichernden Bezirke sind praktisch frei von Tusche. Dies spricht dafür, daß die Kapillaren in vivo nicht mehr durchblutet wurden. Gleichzeitig findet man eine periglomeruläre Infiltration mit rundzelligen Elementen. Im übrigen läßt sich Tylose in den tubuli contorti I nachweisen, vor allem in den apikalen Zytoplasmablasen.

Sechs Wochen nach der letzten Injektion ist es hier zu einer ausgesprochen knotigen Ablagerung in den Glomerula gekommen, wie man sie etwa bei der Glomerulosklerose im Rahmen eines Diabetes sieht. Die Glomerula zeichnen sich durch eine sehr starke Proliferation aus. Im Bereich der Speicherung findet

man keine tuscheinjizierten Kapillaren mehr, so daß die Strombahn an diesen Stellen offenbar vollständig ausgefallen ist (Abb. 22). Speicherungsorte sind hier wieder das Mesangium sowie die Kapillarendothelien. Weiterhin sind die Basalmembranen stark verquollen (Abb. 2o, 21). Weitere Speicherungen finden sich auch in den Endothelien der intertubulären Kapillaren sowie in den Epithelien der Sammelröhren an der Rindenmarkgrenze.
In den Splenektomiepräparaten zeichnen sich die Endothelzellen durch eine kleinvacuoläre Umwandlung aus. An den Kapillaren der Glomerula sieht man eine Art Drahtschlingenphänomen mit verstärkter Lichtbrechung der verdickten Basalmembranen. Das Zytoplasma der tubuli contorti I läßt Tylose in feintropfiger Form erkennen.

Acht Wochen nach der letzten Injektion hat die Verdickung der Basalmembranen der Glomerulumkapillaren weiter zugenommen, während die Speicherung in den Endothelzellen in verschiedenen Präparaten offensichtlich nachgelassen hat. Weiterhin sieht man noch erhebliche Schlingenaneurysmen in den Glomerula. Die Podozyten sind hier von der Speicherung kaum betroffen. Ebenso zeigen die Mesangiumzellen nicht mehr den vollen Speichereffekt. Die Tylosespeicherung findet sich jetzt vor allem in den Epithelien der Sammelröhren.
Bei den splenektomierten Tieren ist auch hier die Speicherung noch erheblich größer als bei den nichtsplenektomierten Tieren.

Abb. 18: Tylose, Niere, 3 Wochen nach der letzten Injektion. Verquellung der Basalmembranen, starke Speicherung von Tylose in den Endothelzellen, Kapillarlumina stellenweise vollständig verschlossen.

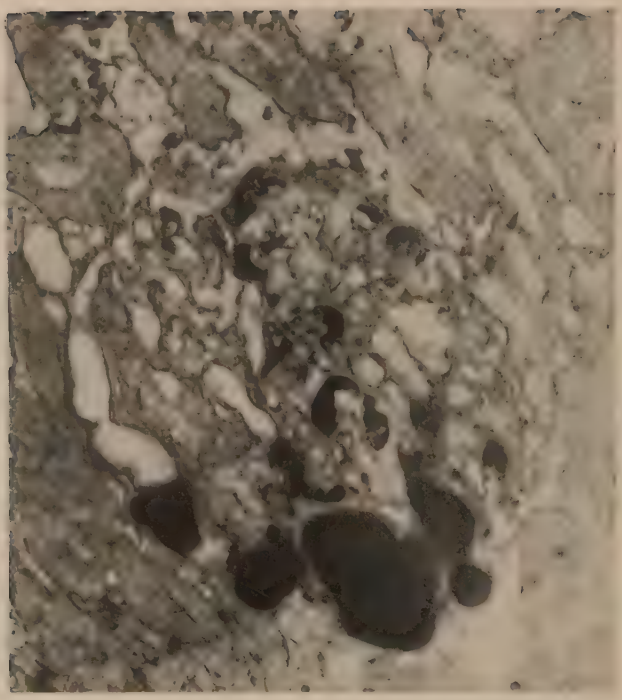


Abb. 19: Tylose, Niere, 3 Wochen nach der letzten Injektion. Basalmembranen stark verquollen und dadurch deutlich sichtbar. Endothelien mit Tylose beladen. * An diesen Stellen Tuschefüllungsdefekte.

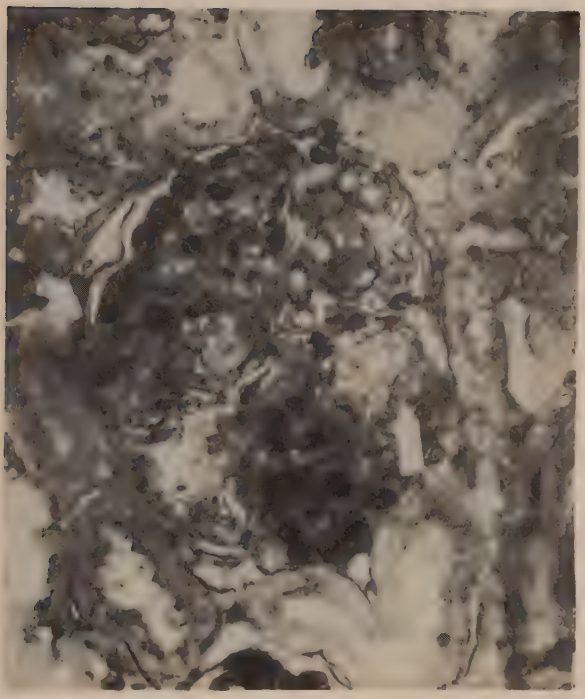


Abb. 2o: Tylose, Niere, 6 Wochen nach der letzten Injektion. Tuschefüllung zurückgedrängt auf den Gefäßpol. Speicherung in den Endothelien.*

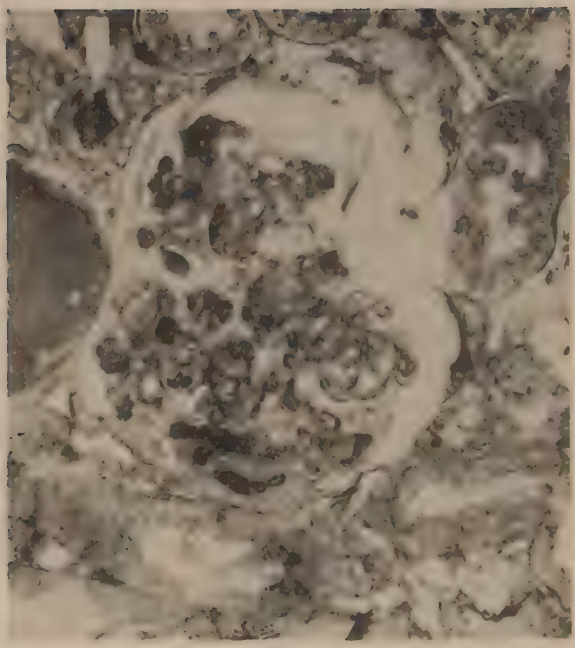


Abb. 21: Tylose, Niere, 6 Wochen nach der letzten Injektion. Starke Ansammlung von Tusche in den vasa afferentia * ohne daß die Tusche in die Schlingen des Kapillarkonvoluts übertritt. Es liegt hier ein Stop am Übergang zwischen vas afferens und Kapillarkonvolut vor.

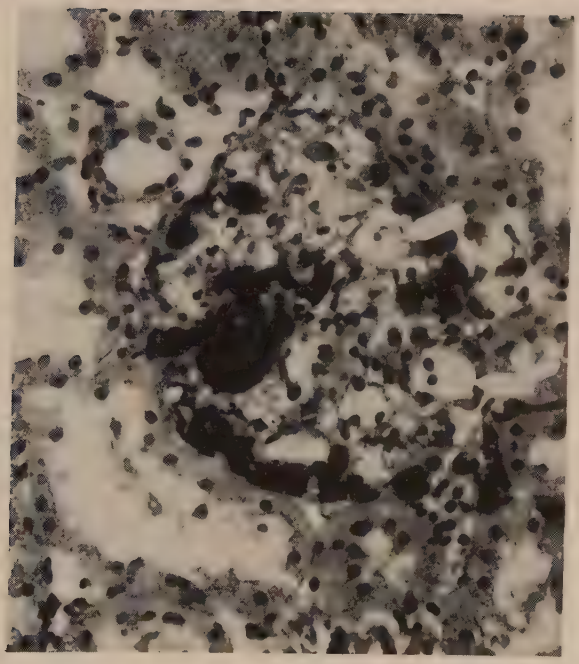


Abb. 22: Tylose, Niere, 6 Wochen nach der letzten Injektion. Starke Speicherung der Tylose in den Endothelzellen* mit Verlegung der Kapillarlumina, Wucherung der ortsständigen Zellen, Abdrängung der Tuschefüllung in periphere oder dem Gefäßpol nahe Schlingen.

2.3.2.4. Lunge

Drei Wochen nach der letzten Injektion findet sich eine erhebliche Verdickung der Alveolarsepten. Die Endothelien haben hier Tylose in großen Mengen gespeichert.

Sechs Wochen nach der letzten Injektion sieht man wiederum die Speicherung in den Endothelien der Lungenkapillaren, wodurch die Strombahn eingeengt wird und die Septen deutlich verbreitert sind. An den Stellen mit starker Speicherung ist das Kapillarnetz unterbrochen, wie die Tuscheinjektion deutlich zeigt.

Acht Wochen nach der letzten Injektion ist hier ein subpleurales Oedem auffällig, an welchem die Tylose beteiligt ist. Jetzt sieht man die Tylose im Gegensatz zu den vorigen Stadien weniger in den Septen bzw. in den Endothelien der Septenkapillaren als in abgelösten Alveolarzellen. Darüber hinaus tritt die Tylose im Rahmen eines entzündlichen Lungenoedems in einzelne Alveolen aus. Durch die erhöhte Kapillarpermeabilität hat die Tylose offenbar die Möglichkeit in die Alveolarräume zu gelangen, wo sie von Pneumozyten II phagozytiert wird. Vor allem beim Austritt von Fibrinogen tritt die Tylose gleichzeitig aus.

2.3.3. Dextran-Blau

Das Dextran-Blau wurde von den Tieren relativ gut vertragen. Haut und Schleimhäute, insbesondere auch die Organe erschienen bei der Obduktion blau.

2.3.3.1. Leber

Eine Woche nach der letzten Injektion, d. h. 17 Tage nach Beginn der Injektionen sind die Kupffer'schen Sternzellen aktiviert und vergrößert sowie mit Dextran gefüllt. Durch die extreme Füllung werden die Sinusoide an den entsprechenden Stellen erheblich eingeengt und von Tusche ausgespart (Abb. 23). Die Speicherung ist in der Leber allerdings nicht gleichmäßig, sondern erfolgt in einigen Läppchen stärker als in anderen. Im Bereich der besonders starken Speicherung sind die weiter zentral liegenden Leberbälkchen erheblich hydropisch geschwollen und erscheinen nach der histologischen Entwässerung kollabiert. Dementsprechend sind bei den Paraffinschnitten die Disse'schen Räume sehr stark ausgeweitet (Abb. 24).

Vier Wochen nach der letzten Injektion sind die Sinusoide auffallend weit, die Disse'schen Räume hingegen sehr schmal. Die Sternzellen enthalten in großen Schollen gespeichertes Dextran-Blau.
Bei den Splenektomiepräparaten zeigt sich eine starke schollige Speicherung in den Sternzellen, die histologisch an Russelkörperchen erinnert.

Acht Wochen nach der letzten Injektion besteht die Speicherung in den Sternzellen weiterhin in Form grober Schollen. Dies gilt in erhöhtem Maß für die Splenektomiepräparate. Daneben zeigt sich jedoch auch eine feingranuläre Speicherung in den Leberparenchymzellen (Abb. 25).

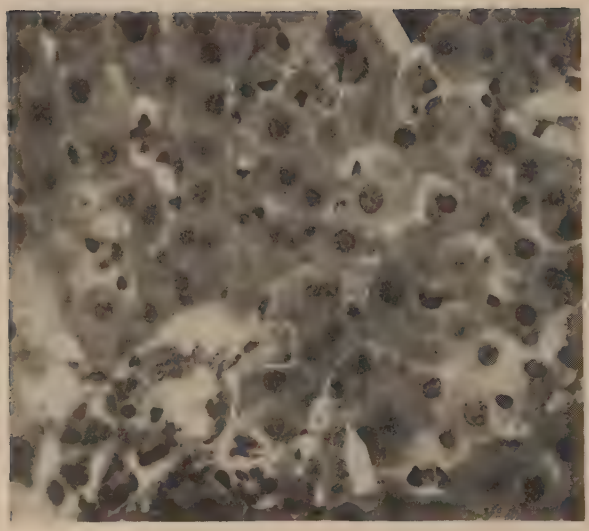


Abb. 23: Dextran-Blau, Leber, 1 Woche nach der letzten Injektion. Dextran-Blau Speicherung in den Sternzellen *, Komprimierung der Sinusoide.

Abb. 24: Dextran-Blau, Leber, 1 Woche nach der letzten Injektion. Starke hydropische Schwellung der Leberzellen mit entsprechender Erweiterung der Disse'schen Räume*. (Äquivalentbild der hydropischen Schwellung bei Paraffinschnitten).

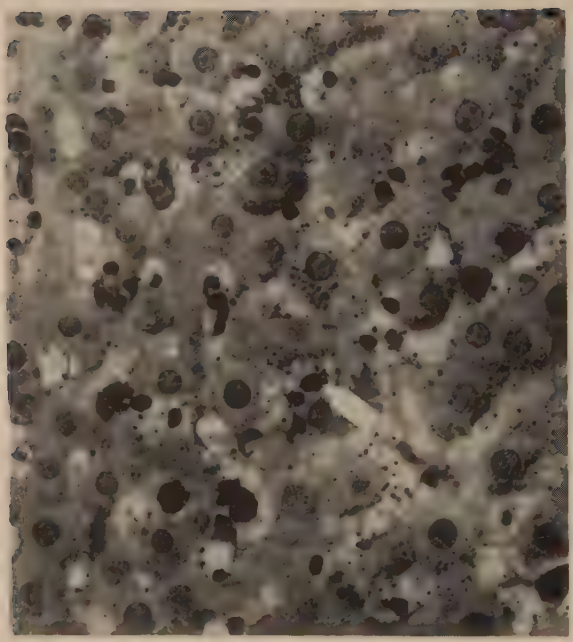


Abb. 25: Dextran-Blau, Leber, 8 Wochen nach der letzten Injektion. Dextran-Blau Speicherung nicht nur in den vermehrten und aktivierten Sternzellen,* sondern auch in feinverteilter Form in den Leberzellen.

2.3.3.2. Milz

Eine Woche nach der letzten Injektion findet man herdförmig angeordnete Reticulumzellen, welche das Dextran-Blau sehr stark gespeichert haben. Die Zellen zeigen eine mittel- bis großvakuoläre Umwandlung. Im Bereich der Speicherherde fehlt die Tuschefüllung. Die Reticulumzellen sind bis auf den vierfachen Normaldurchmesser angeschwollen.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion sieht man eine relativ geringe Speicherung PAS-positiver Substanz in Form kleiner Granula und auch größerer Schollen in den Reticulumzellen.

Vier Wochen nach der letzten Injektion sind die speichernden Zellen dichter zusammengerückt. Gleichzeitig hat sich die Zahl der Lymphfollikel auf etwa 2o - 3o % reduziert.

Acht Wochen nach der letzten Injektion speichern die Reticulumzellen das Dextran-Blau in grobscholliger Form.

2.3.3.3. Niere

Eine Woche nach der letzten Injektion sind die intertubulären Kapillaren und das Kapillarnetz der Glomerula gut mit Tusche gefüllt. Die Dextran-Blau Speicherung erfolgt in einigen Makrophagen in der Rinde, an der Rindenmarkgrenze sowie im Markbereich. Die Tubulusepithelien enthalten kein Dextran-Blau. Von der intraperitonealen Gabe her sind in der Fettkapsel der Niere, also im retroperitonealen Bereich, Anteile des Dextran-Blau in großen Makrophagen gespeichert. Das Dextran-Blau wird in alle aktivierten Mesenchymzellen z. B. auch in Granulationsgewebe eingelagert.
Bei den Splenektomiepräparaten zeigt sich nun auch eine Speicherung innerhalb der Glomerula, und zwar in den Podozyten und Mesangiumzellen. Dabei fällt auf, daß die stärker speichernden Kapillarkonvolute sich nicht mehr recht mit Tusche füllen. An einigen Glomerula ist es zu einer umschriebenen Wucherung der Dextran-Blau speichernden Podozyten und dadurch zu Kapselsynechien gekommen. Ferner fallen neben den Speicher-

bezirken im Kapillarkonvolut der Glomerula Schlingenaneurysmen auf. Sehr stark speichernde Schlingen verlieren ihren Zellbesatz und gehen offenbar zugrunde. Die Mesangiumzellen, die Dextran-Blau speichern, wandeln sich mitunter nach Art von Siegelringzellen um. Die intertubulären Kapillaren hinter schlecht gefüllten Glomerula zeigen eine schlechte Tuschefüllung.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion ist die Speicherung in den Glomerula insgesamt gering. Die Tuschefüllung ist dementsprechend gut. Es fällt jedoch hier eine Einwässerung der Tubulusepithelien auf und eine, wenn auch geringe, interstitielle, oedematöse Durchtränkung. Bei der PAS-Färbung stellt sich das Dextran sehr gut dar. Nur vereinzelte Glomerula zeigen eine extreme Speicherung mit entsprechendem Tuschefüllungsdefekt. Diese starke Speicherung betrifft aber höchstens 5 % der Glomerula. Die Speicherung findet in Endothelzellen statt, die im übrigen aber auch ohne Speicherung stark geschwollen sind.

Bei den Splenektomiepräparaten zeigen ebenfalls nur einzelne Glomerula den vollen Speichereffekt, während die Endothelien insgesamt geschwollen sind, aber keine gespeicherte Substanz enthalten. Die Niere macht im ganzen den Eindruck einer Diabetes-Niere mit angedeuteten Armanni-Ebstein Zellen. Bei dieser zweiwöchigen Speicherung kommt es nunmehr zu einer Proliferation der Mesangiumzellen, wie bei einer minimal proliferierenden Glomerulonephritis. Bemerkenswert sind bei den splenektomierten Tieren infolge der Proliferation auffallend häufig Kapselsynechien. Auffallend ist weiter ein erhebliches intertubuläres Oedem, wodurch sich die intertubuläre Kapillarstrekke kaum mit Tusche füllt. Die Tubulusepithelien zeigen mitunter eine starke Einwässerung entsprechend einer sogenannten osmotischen Nephrose. Die Lumina sind relativ weit. Das Nierenparenchym erscheint deutlich geschädigt und die Ausscheidung dürfte nach dem histologischen Bild reduziert gewesen sein.

Vier Wochen nach der letzten Injektion sind die Endothelien des Kapillarkonvoluts der Glomerula weiterhin stark geschwollen und lassen sich mit Tusche nicht füllen. Hier findet jedoch keine Speicherung statt.
Dagegen findet sich bei den splenektomierten Tieren eine stärkere Speicherung im Kapillarkonvolut und im Interstitium. Hier findet man auch bereits angedeutete Halbmondbildungen mit Wucherung des Kapselepithels. Die glomeruläre Speicherung bezieht sich vor allem auf das Mesangium.

Acht Wochen nach der letzten Injektion weisen die Endothelien des Kapillarkonvoluts noch kugelförmige Speicherungen von Dextran-Blau auf. Ebenso sieht man noch Speicherungen in Mesangiumzellen im PAS-Schnitt.
Bei den Splenektomiepräparaten findet man ebenfalls eine geringe Speicherung in Endothel- und Mesangiumzellen. Die Endothelien erscheinen geschwollen, die Kapillaren der Glomerula sind nicht mit Tusche gefüllt. Auffällig sind zahlreiche Synechien. Die Zahl dieser Synechien dürfte gegenüber der Norm zehnfach größer sein. Weiterhin sieht man eine interstitielle lymphozytäre Begleitreaktion. Insgesamt muß man sagen, daß der Speichereffekt nach Splenektomie noch wesentlich größer ist.

2.3.3.4. Lunge

Eine Woche nach der letzten Injektion zeigt die Lunge bei den splenektomierten Tieren eine Dextran-Blau Speicherung in den Endothelien der Lungenkapillaren, die jedoch nicht ausreicht, die Strombahn einzuengen.

Zwei Wochen nach der letzten Injektion erkennt man ebenfalls gespeicherte Substanz in den Endothelien ohne Einengung der Kapillaren.

Vier Wochen nach der letzten Injektion zeigen die Präparate der nichtsplenektomierten Tiere keine Besonderheiten.
Bei den Splenektomiepräparaten hingegen sind die Endothelien der Lungenkapillaren stellenweise stark geschwollen, wodurch es zu einem Tuschefüllungsdefekt kommt. PAS-positives Material

findet sich jedoch in den geschwollenen Endothelien nicht. Einige Zellen lassen eine Siegelringbildung erkennen.

2.4. Morphometrische Untersuchungen

2.4.1. Eisen-Dextran

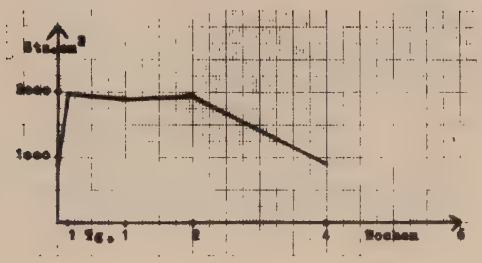


Abb. 26: Eisen-Dextran, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den nicht-splenektomierten Tieren.

Aus dem Kurvenverlauf ist ersichtlich, daß die Zahl der Sternzellen der Leber pro Flächeneinheit innerhalb von fünf Tagen nach intraperitonealer Injektion des Eisen-Dextrans auf das über Zweifache ansteigt. Der Fremdstoffreiz führt dazu, daß die Zahl der Sternzellen 14 Tage lang in dieser Höhe bleibt, dann allmählich bis zur 4. Woche wieder abfällt.

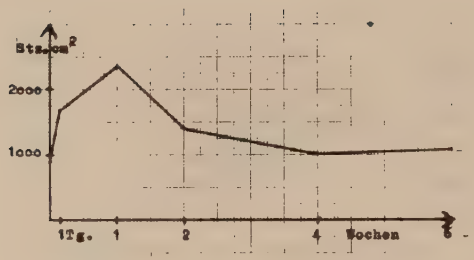


Abb. 27: Eisen-Dextran, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den splenektomierten Tieren.

Bei den splenektomierten Tieren ist im Gegensatz zu den nicht-splenektomierten Tieren der initiale Anstieg bis zur 1. Woche erheblich größer. Danach tritt direkt der Abfall der Kurve bis zur 4. Woche hin ein.

Der Vergleich der beiden Kurven zeigt, daß die Milz bei dieser niedermolekularen Substanz eine kurzfristige "Windkesselfunktion" besitzt.

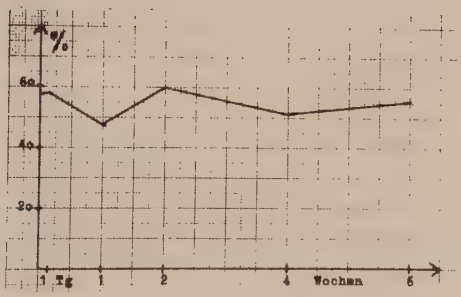


Abb. 28: Eisen-Dextran, Niere, prozentualer Anteil des Tubulusepithels an der Nierenrinde der nicht-splenektomierten Tiere.

Wie die Kurve zeigt, nimmt das Gesamtvolumen der Tubulusepithelien unter dem Einfluß des Eisen-Dextrans in der 1. Woche etwas ab, um nach 14 Tagen den Normalwert wieder zu erreichen. Wesentliche Speicherungen, die zu einer Zunahme des Gesamtvolumens führen würden, liegen hier nicht vor. Das Eisen-Dextran wird ausgeschieden ohne in größeren Mengen von den Tubulusepithelien gespeichert zu werden.

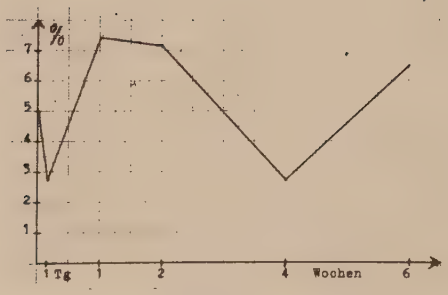


Abb. 29: Eisen-Dextran, Niere, prozentualer Anteil der Glomerulumkonvolute an der Nierenrinde der nichtsplenektomierten Tiere.

Das umgekehrte Verhalten wie die Tubulusepithelien zeigen die Kapillarkonvolute der Glomerula, die in der 1. und 2. Woche, also zur Zeit der intensivsten Ausscheidung des Eisen-Dextrans, eine signifikante Vermehrung des Anteils am Gesamtvolumen der Nierenrinde zeigen. Das entspricht den Befunden auf den histologischen Bildern, nach denen die Kapillarkonvolute mit einer Zellvermehrung und Schwellung der Endothelien sowie der Epithelien und mit einer Verbreiterung des Mesangiums reagieren. Nachdem die Hauptausscheidung des Eisen-Dextrans erfolgt ist, geht das Volumen der Kapillarkonvolute in der 4. Woche zurück, steigt aber dann infolge einer Proliferation und Verbreiterung des Mesangiums als proliferative Antwort auf die vorausgegangene Nierenschädigung wieder an.

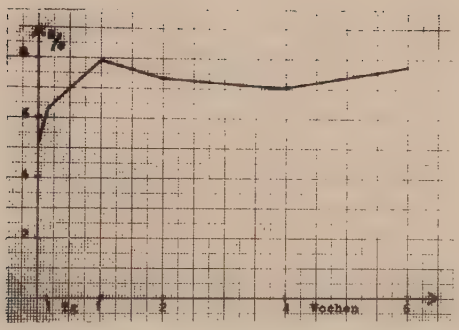


Abb. 30: Eisen-Dextran, Niere, prozentualer Anteil der Glomerulumkonvolute an der Nierenrinde der splenektomierten Tiere.

Bei den splenektomierten Tieren nimmt das Durchschnittsvolumen der Kapillarkonvolute der Glomerula innerhalb einer Woche zu und erreicht hier sein Maximum. Infolge des stark anflutenden Eisen-Dextrans kommt es zu einer proliferativen Reaktion der ortsständigen Zellen der Glomerula, die, wie es sich in den histologischen Bildern zeigt, nach etwa 4 Wochen stark ausgeprägt ist.Im Gegensatz zu den nichtsplenektomierten Tieren (Abb. 29) fällt die Kurve nicht in der 4. Woche ab,sondern es geht die Raumforderung durch die Speichervorgänge direkt in die der Zellproliferation über.

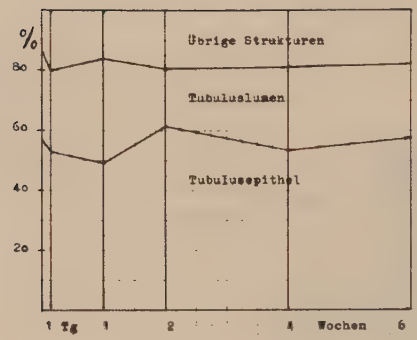


Abb. 31: Eisen-Dextran, Niere, prozentualer Anteil von Tubulusepithel, Tubuluslumen und übrigen Strukturen in der Nierenrinde der splenektomierten Tiere.

Die Abbildung zeigt eine Zusammenstellung der prozentualen Anteile von Tubuluslumen, Tubulusepithelien und den übrigen Strukturen der Nierenrinde. Aus der Kurve geht hervor, daß sich die Tubulusepithelien in der 2. Woche nach der letzten Injektion auf Kosten der Tubuluslumina etwas ausdehnen, während der Volumenanteil der übrigen Strukturen wie Interstitium und Glomerula insgesamt keine wesentlichen Schwankungen zeigt. Hier besteht kein nennenswerter Unterschied zwischen nicht-splenektomierten und splenektomierten Tieren. Insgesamt erweisen sich bei der Ausscheidung der niedermolekularen Fremdstoffe vom Typ des Eisen-Dextrans die Tubulusepithelien als in Form und Größe stabile Strukturelemente.

2.4.2. Tylose

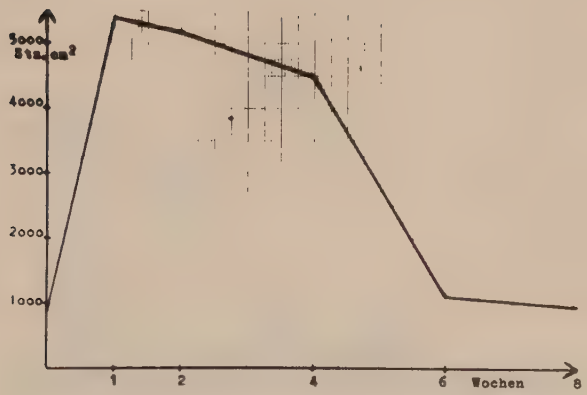


Abb. 32: Tylose, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den nichtsplenektomierten Tieren.

Nach Injektion von Tylose steigt die Zahl der Sternzellen der Leber innerhalb einer Woche nach der letzten Injektion gegenüber der Norm auf etwa den fünffachen Wert. Diese Zellvermehrung, die von einer erheblichen Aktivierung der Sternzellen begleitet wird, klingt nach 4 Wochen ab und erreicht nach 8 Wochen die normalen Werte.

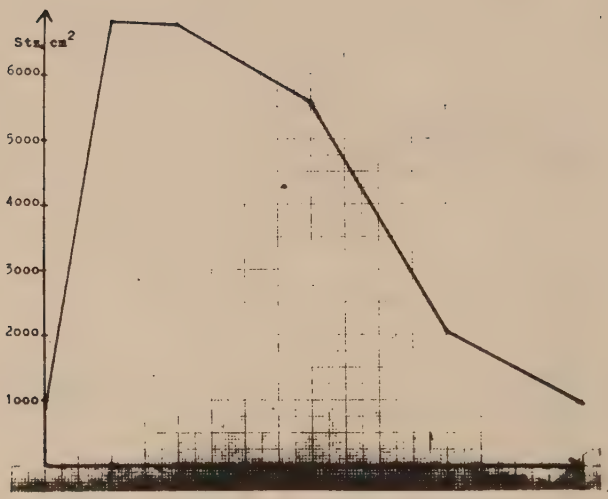


Abb. 33: Tylose, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den splenektomierten Tieren.

Wie die Kurve in dieser Abbildung zeigt, reagieren die Sternzellen der Leber bei den splenektomierten Tieren wesentlich stärker als bei den nichtsplenektomierten Tieren. Die mesenchymale Aktivierung und Reaktion der Leber ist stärker und hält länger an. Nach 6 Wochen liegen die Sternzellen pro Flächeneinheit noch doppelt so hoch wie normal.

Der Vergleich mit den entsprechenden Kurven beim Eisen-Dextran zeigt, daß die mesenchymale Reaktion mit steigendem Molekulargewicht heftiger ist.

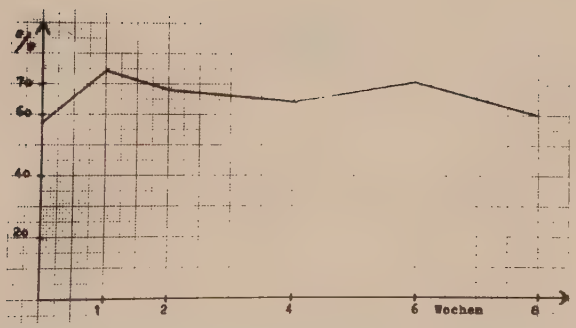


Abb. 34: Tylose, Niere, prozentualer Anteil des Tubulusepithels an der Nierenrinde der nichtsplenektomierten Tiere.

Der prozentuale Volumenanteil des Tubulusepithels der Nierenrinde wird von den parenteralen Tylosegaben nicht wesentlich beeinflußt. Es kommt nur nach einer Woche zu einer Vermehrung des relativen Volumenanteils wohl infolge einer hydropischen Schädigung. Wie die Kurve zeigt, sind wesentliche Speichervorgänge nicht erfolgt.

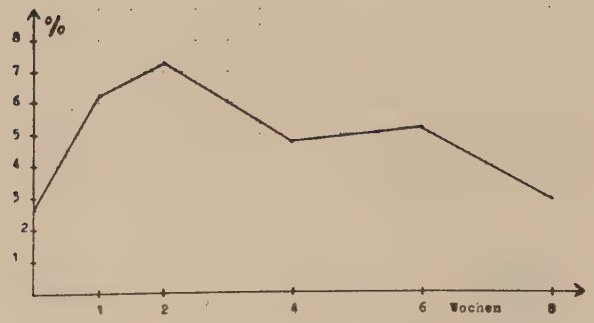


Abb. 35: Tylose, Niere, prozentualer Interstitiumanteil an der Nierenrinde bei den splenektomierten Tieren.

Die Kurve läßt erkennen, daß das Interstitium innerhalb von zwei Wochen auf den etwa zweieinhalbfachen relativen Wert ansteigt. Diese Volumenvermehrung ist Ausdruck des interstitiellen Oedems, welches bis zur 8. Woche wieder abgeklungen ist. Auch dieser Kurvenverlauf ist offensichtlich auf den Einfluß der Splenektomie zurückzuführen.

2.4.3. Dextran-Blau

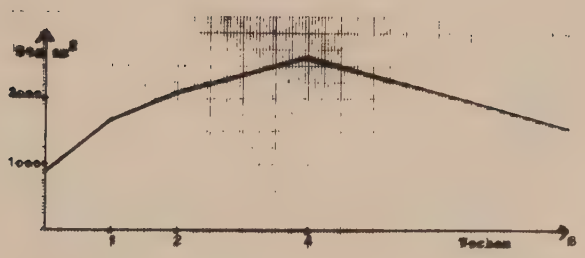


Abb. 36: Dextran-Blau, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den nichtsplenektomierten Tieren.

Die Kurve zeigt, daß die Anzahl der Sternzellen in der Leber innerhalb von 4 Wochen auf fast das Dreifache ansteigt. Die Aktivierung des Mesenchyms, die durch die Proliferation der Sternzellen zum Ausdruck kommt, ist nach 8 Wochen noch nicht völlig abgeklungen. Der langsame Anstieg der Kurve ist dadurch zu erklären, daß das hochmolekulare Dextran-Blau erst allmählich aus dem Peritonealraum in das Blut gelangt und vom RHS aufgenommen werden kann. Im Hinblick auf die Abbildung 37 ist jedoch wahrscheinlicher, daß das Dextran-Blau nach einer relativ schnellen Aufnahme aus dem Peritonealraum zunächst im Blut kreist bzw. in die Milz aufgenommen wird und im Rahmen eines dynamischen Vorganges aus diesen Organen wieder abgezogen und in die Leber verlagert wird.

Abb. 37: Dextran-Blau, Leber, Anzahl der Kupffer'schen Sternzellen pro Quadratcentimeter bei den splenektomierten Tieren.

Bei den splenektomierten Tieren erfolgt der Anstieg der Kurve innerhalb einer Woche und ist in acht Wochen noch nicht wesentlich abgeklungen. Dies bedeutet, daß der mesenchymale Reiz des Dextran-Blau über Monate anhält und die Substanz monatelang gespeichert wird.

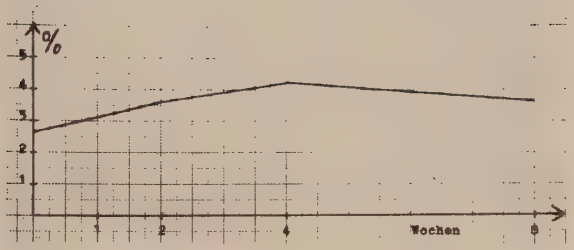


Abb. 38: Dextran-Blau, Niere, prozentualer Interstitiumanteil an der Nierenrinde der nichtsplenektomierten Tiere.

Der prozentuale Volumenanteil des Interstitium an der Nierenrinde schwankt bei den nichtsplenektomierten Tieren in relativ engen Grenzen. Demgegenüber besteht eine deutliche relative Volumenzunahme des Interstitium bei Splenektomie.

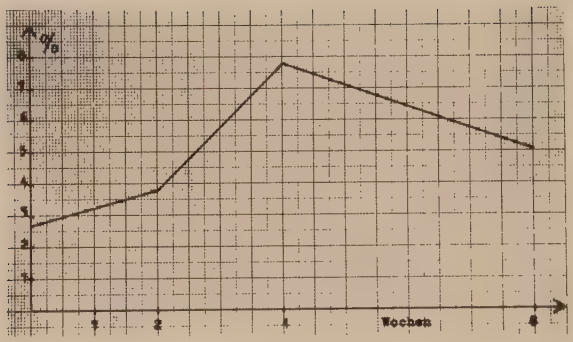


Abb. 39: Dextran-Blau, Niere, prozentualer Interstitiumanteil an der Nierenrinde der splenektomierten Tiere.

Infolge des Milzverlustes kommt es bei der Gruppe der splenektomierten Tiere zu einer Verbreiterung des Interstitium unter dem Dextran-Blau auf etwa den dreifachen Ausgangswert. Auch hier zeigt die Milz bei Einwirkung hochpolymerer Stoffe eine deutliche Schutzfunktion für die parenchymatösen Organe.

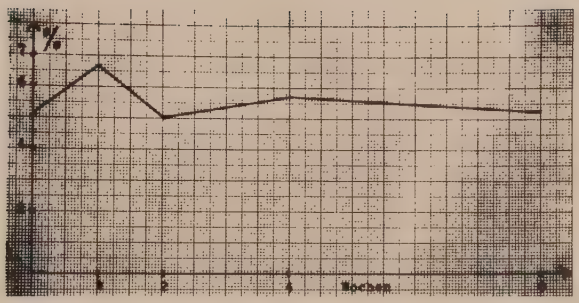


Abb. 40: Dextran-Blau, Niere, prozentualer Anteil der Glomerulumkonvolute an der Nierenrinde der nichtsplenektomierten Tiere.

Entsprechend den histologischen Befunden kommt es zwar zu einer Einlagerung von Dextran-Blau in das Mesangium, in die Endothelien und die Podozyten. Dabei steigt jedoch der prozentuale Anteil der Glomerulumkapillarkonvolute unwesentlich an, wie die Kurve zeigt. Nach den histologischen Befunden wird jedoch die Volumenvermehrung in den einzelnen Zellen infolge der Speicherung durch einen Schlingenkollaps ausgeglichen, wie sich mit Hilfe der Tuscheinjektion zeigen läßt.

3. Diskussion

3.1. Eisen-Dextran

Von Entzündungen wie der Hepatitis oder unspezifischen Reizungen des Lebergewebes ist die große Reagibilität des aktiven Lebermesenchyms bekannt. Bei Schädigungen der unterschiedlichsten Art reagieren die Sternzellen bereits mit einer Vermehrung und Aktivierung.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Kupffer'schen Sternzellen haben gezeigt, daß die Aktivierung mit einer Vermehrung des Endoplasmatischen Reticulums einhergeht, wodurch auch die verstärkte Basophilie im Lichtmikroskop zu erklären ist.

Die Versuche zeigen, daß bereits wenige Tage nach Reizung der Sternzellen durch über das Blut anflutende Fremdstoffe eine erhebliche Vermehrung und Aktivierung der Sternzellen nachweisbar wird, wie man sie sonst häufig in Leberbiobsien beim Menschen sieht. Doch sind nicht nur die Sternzellen betroffen, sondern auch die Leberzellen haben Eisen-Dextran in großen Mengen aufgenommen; die Speicherung unterscheidet sich allerdings in der Teilchengröße: Während die Sternzellen das Eisen-Dextran in groben Schollen speichern, findet man in den Hepatozyten nur eine feinkörnige Speicherung, wobei die Speichersubstanz dicht nebeneinander liegt.Die Sinusoide sind in diesem Anfangstadium noch weit und lassen sich mit Tusche injizieren. Die Befunde von J o z s a , der Dextranspeicherungen in Stern- und Leberzellen sah, weiterhin die Befunde von H a r t m a n n , der Speicherungen in den Sternzellen beschrieb sowie die Befunde von M e i j e r und W i l l i g h a g e n, die Speicherungen in Stern- und Leberzellen beobachteten, wobei die acinuszentrale Speicherung am größten war, können hier dementsprechend bestätigt und ergänzt werden. Insbesondere bestätigen unsere Versuche auch die von H a r t m a n n und B e h r m a n n beobachteten Nekrosen in den Acinuszentren, wobei offenbar örtliche Kreislaufstörungen mit anoxischer Schädigung eine große Rolle spielen.

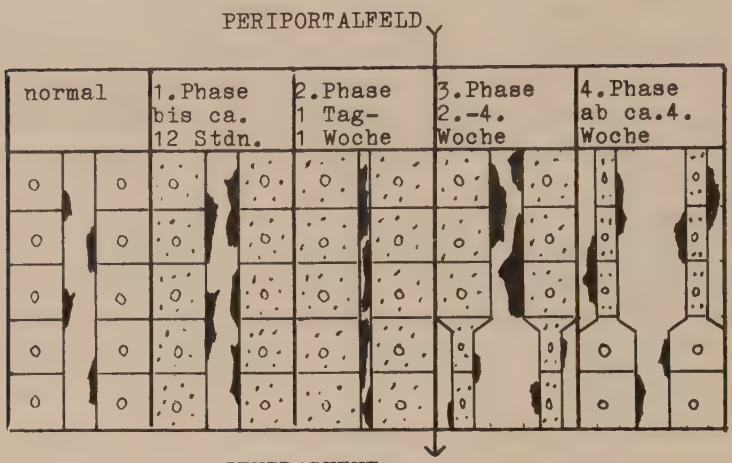
In späteren Stadien, d. h. im "Regeneratzellstadium", findet man in diesen Regeneraten kein Eisen-Dextran mehr, da inzwischen der Dextran-Blutspiegel sehr stark abgesunken ist und der Dextran-Gradient von Sinusoiden zu Hepatozyten zu flach verläuft, um noch einen Speichereffekt hervorrufen zu können. Dies spricht andererseits aber auch dafür, daß diese Substanz innerhalb einer kurzen Frist durch die Niere eliminiert werden kann. Schließlich kann man die mangelnde Bereitschaft der Hepatozyten in diesem Stadium noch Eisen-Dextran aufzunehmen sowie die Tatsache, daß sich zu Beginn der Speicherung die Leberzellen weniger spontan mit Dextran beladen als die Kupffer'schen Sternzellen, dahingehend deuten, daß die Leberparenchymzellen ein Speicherorgan "2. Ordnung" neben den Sternzellen sind.

Bemerkenswert ist auch insbesonders, daß sich die Regeneratzellen des Acinuszentrums weitgehend an die Läppchentextur halten.

Die Synopsis der Morphometrie entspricht ganz den histologischen Beobachtungen und zeigt deutlich, daß die Zahl der Sternzellen innerhalb von 5 Tagen nach der ersten Eisen-Dextran-Injektion auf das Doppelte pro Flächeneinheit ansteigt. Die Kurve zeigt weiter, daß diese Fremdstoffe etwa 14 Tage festgehalten werden und dann bei der Ausscheidung durch die Niere ein allmälicher Abfall erfolgt. Der leichte Anstieg zwischen der 4. und 6. Woche ist so zu erklären, daß jetzt aus der Milz, in welcher initial reichlich Eisen-Dextran gespeichert wurde, diese Substanz wieder an das Blut abgegeben wird und damit erneut zu einem Fremdstoffreiz auf die Sternzellen führt.

Vergleicht man das zahlenmäßige Verhalten der Sternzellen bei splenektomierten und nichtsplenektomierten Tieren, so läßt sich nachweisen, daß beim Fehlen der Milz die anflutende und von Sternzellen aufgenommene Eisen-Dextran-Menge zunächst wesentlich größer ist, dann jedoch schneller wieder abklingt und zu Normwerten zurückkehrt, da keine Milz mehr vorhanden ist, welche das Eisen-Dextran nach und nach an das Blut wieder abgeben

Schematische Darstellung der einzelnen Phasen bei Überflutung des Leberläppchens mit Eisen-Dextran.



	1.Phase	2.Phase	3.Phase	4.Phase
Leberzellen	norm.Größe,Dex.-Speicher.	geschwollen,Dex.-Speicher.	zentral atroph. Zelluntergang	zentr.Regenerate, keine Dex.-Speicher. / intermed. Atrophie
Sternzellen	aktiviert Dex.-Speicherung	aktiviert Konglomerate,Dex.-Speicherung	zentral vermindert / intermed. Konglomerate	zentral vermindert / intermed. vermehrt-normal
Sinusoide	offen	komprimiert	zentral erweitert	intermed. erweitert
Tusche	Injektion	keine Injektion	je nach Sinuszustand in d.Interm. Zone	intermed. Tusche-seen

könnte. Die Milz scheint bei dieser niedermolekularen Dextran-Fraktion eine ganz kurzfristige "Windkesselfunktion" auszuüben

Bei der Niere zeigen die Versuche, daß das Eisen-Dextran eine Affinität zu den Mucopolysacchariden der Basalmembranen besitzt und sich hier zunächst ablagert. Man könnte hier von einem besonderen Stadium der Speicherung, einer "Membranspeicherung" sprechen. Ähnliche "Membranspeicherungen" macht auch kolloidales Eisen in vitro, wie es z. B. bei der Hale-Färbung, der Färbung für Mucopolysaccharide, benutzt wird.

Bemerkenswert ist weiterhin eine starke Zellproliferation der ortsständigen Glomerulumzellen. Die Injektion der Tusche zeigt hier, daß im Bereich der stärkeren Zellproliferation die Tusche die Kapillarschlingen nicht füllt. Es kommt vielmehr zu einer vorwiegenden Füllung der peripher liegenden Schlingen, die von der Zellproliferation weniger betroffen sind. Der übrige glomerulumzentral gelegene Anteil des Konvolutes dürfte daher in vivo auch mit Blut nur vermindert durchströmt worden sein, so daß diese Bereiche am lebenden Tier für die Filterung harnpflichtiger Substanzen ausfallen müssen. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß auch bei entzündlich bedingten Zellproliferationen der Glomerula die Durchblutung in vivo gedrosselt ist, selbst wenn kein Spasmus der zuführenden Arterien und Arteriolen vorliegt, wie es sich nach dem Bild der Tuscheinjektion sicher ausschließen läßt.

Die von J a m e s und A s h w o r t h sowie von J o z s a et al. beschriebenen Speicherorte wie Endothel der Glomerula, Bowman'sche Kapsel, Basalmembranen und Tubulusepithel können wir bestätigen.

Vier Wochen nach der letzten Injektion erscheint es bemerkenswert, daß eine Dysporie an den Kapillaren auftritt, die mit einer starken Quellung der Basalmembranen einhergeht.

Die in den späteren Stadien beobachteten Synechien sind so zu erklären, daß ein fibrinoides Material "ausgeschwitzt" wird und zu Kapselverklebungen führt. Hier ist das Stadium der Membranspeicherung überwunden. Das Eisen-Dextran sammelt sich

jetzt nicht mehr in den Basalmembranen an, sondern ist durch diese hindurchgetreten, wo es dann in Mesangiumzellen und Podozyten gespeichert wird. Nach der passageren"Membranspeicherung" ist jetzt das 2. Stadium, das der "zellulären Speicherung" erreicht.

Histologisch zu vermuten und morphometrisch zu belegen ist die Tatsache, daß die Beladung der Glomerulumkonvolute mit Eisen-Dextran bei den splenektomierten Tieren praktisch übergangslos in die nachfolgende Proliferation mündet, während bei den nichtsplenektomierten Tieren eine gewisse Latenzzeit um die 4. Woche besteht, in der das Glomerulumvolumen geringer ist. Dementsprechend könnte man bei den nichtsplenektomierten Tieren von zwei Phasen sprechen: In der 1. Phase wird erheblich Eisen-Dextran von Mesangiumzellen, Endothelien und Podozyten aufgenommen. Gleichzeitig besteht eine hydropische Schwellung. Beides, die Stoffaufnahme und die hydropische Schwellung führen zu einer durchschnittlichen Vergrößerung des Kapillarkonvoluts. Mit dem Nachlassen der Ausscheidung geht auch in der 4. Woche die Schwellung zurück. Es folgt dann in der 2. Phase unter dem schädigenden Reiz eine Proliferation der ortsständigen Zellen des Kapillarkonvoluts mit entsprechender Volumenvermehrung. Demgegenüber schließt sich bei den splenektomierten Tieren infolge des Milzverlustes die proliferative Phase direkt an die Ausscheidungsphase an, wodurch die Volumenschwankung des Kapillarkonvoluts praktisch ausgeglichen wird.

Die histologisch gesehene Beladung der Tubulusepithelien stellt sich morphometrisch als Ausdehnung der Tubulusepithelien bei gleichzeitiger Einengung der Tubuluslumina dar.

3.2. Tylose

Bei der Tylose ist die mesenchymale Reaktion der Leber, als deren Maß wir die Zahl der Sternzellen pro Flächeneinheit aufgefaßt haben, erwartungsgemäß wesentlich stärker als beim Eisen-Dextran. Die hochmolekularen, nicht harnfähigen Fraktionen der Tylose werden in großen Mengen in den Sternzellen gespeichert und lösen eine starke Proliferation bis zur Bildung von Retothelknötchen aus. Hierin und in der Feststellung, daß der Höhepunkt der Beladung ca. 7 Tage nach der letzten auffüllenden Injektion liegt, können wir die Beobachtungen von J u n g und B r i z i a r e l l i bestätigen.

Es läßt sich zeigen, daß neben der Menge auch das Molekulargewicht bzw. die Größe der Teilchen eine Rolle bei der mesenchymalen Reaktion der Leber spielt, und zwar in dem Sinne, daß bei steigendem Molekulargewicht die Mesenchymalreaktion stärker ist und länger anhält.

Von großem Interesse ist bei den Tylosetieren ein Vergleich zwischen splenektomierten- und nichtsplenektomierten Tieren. Durch die operative Reduktion des RHS, durch die Entnahme der Milz, ist es wie erwartet zu einer vermehrten Belastung und Aktivierung der übrigen Anteile des RHS gekommen; im vorliegenden Fall vor allem der Sternzellen. Dieser Befund deckt sich sinngemäß mit den Beobachtungen von H a l l und H a l l, denen zufolge es bei splenektomierten Ratten zu stärkerer Hypertrophie der Leber als bei nichtsplenektomierten Tieren kommt.

Da diese starken mesenchymalen Reaktionen der Leber, wie sie bei den Tylosegaben beobachtet werden, zu einer Einengung oder gar Verlegung der Sinusoide mit Schädigungen und Zelluntergängen der Leberzellen führen, übt die Milz eine indirekte Schutzfunktion bei parenteralen Gaben hochmolekularer Stoffe aus. Dadurch, daß die Milz einen großen Teil der Fremdsubstanzen abschöpft, kann auch die mesenchymale Reaktion der Leber erstens dem Betrag nach geringer sein und zweitens schneller

wieder abklingen.

Während die kleinmolekularen Substanzen wie das Eisen-Dextran vorübergehend an den Basalmembranen der Niere angereichert werden und dann doch nach Durchtritt in den Podozyten bzw. Mesangiumzellen gespeichert werden, erfolgt die Speicherung der hochmolekularen Substanz Tylose, welche die Basalmembranen mit ihren höhermolekularen Fraktionen nicht durchdringt, in den Endothelzellen, wodurch die Lichtung der Kapillaren verlegt wird. Es läßt sich denken, daß die Nierenreserve bei zunehmendem funktionellen Ausfall der Kapillarkonvolute erschöpft wird und es dann zu einer passageren Niereninsuffizienz kommt. Es ist zu vermuten, daß dieser Vorgang auch zur schlechten Verträglichkeit für die Ratten wesentlich beigetragen hat.

Die von J u n g und B r i z i a r e l l i beschriebene Mesangiumspeicherung sowie die an einen "Kimmelstiel-Wilson" erinnernden Veränderungen der Glomerula konnten auch hier gemacht werden.

Da die Tylose in ihren wesentlichen Anteilen, nämlich den Fraktionen mit einem Molekulargewicht von über 80.000 nicht nierengangig ist, ist ein wesentlicher Einfluß auf das Tubulusepithel in Form einer Speicherung nicht zu erwarten. Beim Eisen-Dextran erfolgte keine starke Speicherung obwohl sie möglich gewesen wäre, da die Substanz durch die Niere ausgeschieden wird, während die Tylose nur mit ihren relativ niedermolekularen Fraktionen in den Primärharn gelangt.

3.3. Dextran-Blau

Im Prinzip scheinen sich beim Dextran-Blau dieselben Veranderungen in der Leber abzuspielen wie schon beim Eisen-Dextran nur in etwas abgeschwächter Form: Zentrale Läppchenatrophie bzw. hydropische Schwellung der Hepatozyten mit Komprimierung der Sinus sowie schollige Speicherung in den Sternzellen.

Während jedoch die niedermolekularen Substanzen wie das Eisen-Dextran bereits nach Stunden bis Tagen in den Leberzellen nachweisbar ist, braucht das Dextran-Blau Wochen. Eventuell muß der Aufnahme der hochmolekularen Substanz durch die Leberzellen ein Abbau in kleinere Einheiten vorausgehen, wie auch die Untersuchungen von R a v d i n vermuten ließen. Danach könnte der bei 4 Wochen liegende Gipfel der Sternzellspeicherung als Höhepunkt der vermuteten Zerlegung in kleinere Bausteine angesehen werden. Zu diskutieren wäre hier eine Fermentinduktion, die jedoch im Falle der Splenektomie innerhalb von 1 - 2 Wochen erfolgt sein müßte.

4. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß von drei makromolekularen Substanzen mit den Molekulargewichten 7.5oo, 8o.ooo - 12o.ooo und 2.ooo.ooo auf Leber, Niere und Lunge von Ratten untersucht. Dabei wurde der Effekt der Splenektomie morphometrisch festgehalten. Im Einzelnen kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

1. Makromolekulare Substanzen auch mit einem Molekulargewicht von 7.5oo sind bereits in der Lage bei Überdosierung Dauerschäden im Bereich der Niere hervorzurufen. Diese Dauerschäden beziehen sich in erster Linie nach den vorliegenden Befunden auf die Synechien.
   In der Leber führt eine starke Vermehrung der Sternzellen mit exzessiver Speicherung zu einer Blockade der Sinusoide und zur hypoxischen Nekrobiose der acinuszentralen Parenchymzellen ähnlich wie bei einem hypovolämischen Schock. Es kommt jedoch nicht zu Dauerschäden in der Leber, wie die sich an die Läppchentextur haltenden Regeneratzellen zeigen.
2. Die toxischste Substanz ist die Tylose mit ihren im Bereich der Nierenschwelle liegenden Fraktionen. Es erfolgt hier die nachhaltigste Einlagerung der Substanz in die Kapillarendothelzellen der Glomerula. Hieraus folgt, daß die Durchblutung in vivo hier sehr vermindert gewesen sein muß, so daß man annehmen kann, daß die Tiere durch Urämie ad exitum kamen.
3. Mit am besten verträglich ist Dextran-Blau mit dem Molekulargewicht von 2.ooo.ooo. Der Verlauf der Morphometriekurven macht es sehr wahrscheinlich, daß der Ausscheidung des hochmolekularen Dextran-Blau ein Abbau in kleinere Fraktionen vorausgeht.

4. Die Milz übt bei allen Substanzen eine Art "Windkesselfunktion" aus, die bei der niedermolekularen Substanz kurz-, bei der mittelmolekularen Substanz mittel- und bei der hochmolekularen Substanz langfristig in Erscheinung tritt, wobei der Betrag der Schutzwirkung bei der Tylose am größten ist. Es folgt daraus der Schluß, daß nach Splenektomie eine erhöhte Empfindlichkeit gegen Plasmaexpander in der Therapie beim Menschen zu berücksichtigen ist.

5. Literaturverzeichnis

1. ASHWORTH, C. T., JAMES, J. A.: Glomerular Excretion of Macromolecular Substances Electron Microscopic Study of Rat Kidney after Administration of Human Serum Albumin. Amer. J. Path. 34, 3o7-316 (1961)

2. BARGMANN, W.: Über Milzveränderungen nach Peristonzufuhr. Dtsch.med.Wschr. 71, 184-185 (1946)

3. CABANNE, F., MICHIELS, R., DUSERRE, P., BASTIEN, H., JUSTRABO, E.: La maladie polyvinylique. Ann. Anat.Path. 14, 419-44o (1969)

4. FRESEN, O., WEESE, H.: Das gewebliche Bild nach Infusion verschiedener Kollidonfraktionen (Periston N, Periston, hochvisköses Periston) beim Tier. Beitr. Path. Anat., 112, 44-62 (1952)

5. FROMMER, J. T.; The Pathogenesis of Reticulo-Endothelial Foam Cells. Effect of PVP on The Liver of The Mouse. J. Amer., J. Path., 32, 433-453 (1956)

6. GÄRTNER, K., VOGEL, G., ULBRICH, M.: Untersuchungen zur Penetration von Makromolekülen (PVP) durch glomeruläre Kapillaren in den Harn und die Nierenlymphe und zur Größe der extravasalen Umwälzung von 131 J-Albumin im Interstitium der Niere. Pflügers Archiv 298, 3o5-321 (1968)

7. GALL, E. A., ALTEMEIER, W. A., SCHIFF, L., HAMILTON, D. L., BRAUNSTEIN, H., GIUSEFFI, J., FREIMANN, D. G.: Liver lesions following intraveinous adminstration of polyvinylpyrrolidone. Amer. J. clin. Path. 23, 1187-1198 (1953)

8. GRUBER, U. F.: Blutersatz Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1968)

9. GURWITSCH, W. E.: Einfluß der Splenektomie auf die Veränderung des Blutgehaltes in intravenös verabreichtem Polyglukin. Problem. Gemmat. 3, 47-51 (1958)

1o. HALL, C. E., HALL, O.: Effect of Splenectomy on Cardiovascular Response to Injected Methylcellulose. Proc. sox. exp. Biol.Med. 11, 153-155 (1962)

11. HEINLEIN, H., HÜBNER, G.: Nachweis des Peristons in Blut, Harn und Gewebe. Betr. path. Anat. 119, 3o1-315 (1958)

12. JAMES, J. A., ASHWORTH, C. T.: Some Foatures of Glomerular Filtration and Permeability revealed by Electron Microscop after Intraperitoneal Injection in Rats. Am. J. Path. 38, 515-525 (1961)

13. JOZSA, L., PERNECZKY, M., LUSZTIG, G.: Histologische Beobachtung bei Behandlung mit Dextran und bei experimenteller Cholesterinsklerose. Zbl. allgem. Path. 1o5, 2oo-213 (1962)

14. JUNG, H. P., BRIZIARELLI, G.: Über das Verhalten eines Gemisches aus Methylcellulose und Carboxymethylcellulose im tierischen Organismus. Virchows Archiv. Bd. 326, 1-21 (1954)

15. LACHAPELLE, J. M.: Thesaurismose cutanee par Polyvinylpyrrolidone.in aquecus Dermatologica 132, 476-489 (1966)

16. LINDNER, J., GUSEK, W.; Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Lympknoten nach Dextranzufuhr. Frankf. Zeitschr. f. Pathologie 7o, 367-388 (196o)

17. MAREK, H., KOCH, H., SEIGE, K. Z.: Untersuchungen über Speicherung und Ausscheidung von tritiummarkiertem Polyvinylpyrrolidon an der Ratte. Ges. exp. Med. 15o, 213-222 (1969)

18. MEIJER, A. E. F. H., WILLIGHAGEN, R. G. Z.: The activity of glucose-6-phosphatase, adenosine triphosphatase, succinic dehydrogenase and acid phosphatase after dextran or polyvinylpyrrolidone uptake by liver in vivo. Biochem. Pharm. 12, 973-98o (1963)

19. MOHN, G.: Storage of polyvinylpyrrolidone in rats organs, shown by direct fluorescence microscopic determination. Acta histochem. 9, 76-96 (196o)

2o. NELSON, A. A., LUSKY, L. M.: Pathological changes in rabbits from repeatet intravenous injectios of Periston (PVP) or Dextran. Proc. Soc. exp. Biol. N. I 76, 765-767 (1951)

21. NOVELLO, G., WESSEL, W.: Experimentelle Nierenschädigung durch Cellulosederivate im elektronenmikroskopischen Bild. Virchows Arch. path. Anat. 336, 278-29o (1963)

22. RAVDIN, I. S.: Plasma Expanders I. A. M. A. 15o, 1o - 13 (1952

23. RAVIN, H. A., SELIGMANN, A. M., FINE, I.: PVP as a plasma expander. Studies on its excretion distribution and metabolism. New Engl. J. Med. 247, 921-929 (1952)

24. SCHOEN, H.: Organveränderung beim Säugling nach Zufuhr von Periston. Klin. Wschr. 27, 463-468 (1949) Nr. 28

25. SCHUBERT, R., WOERNER, H.: Subcutaneous periston N with and without hyaluronidase. Medizinische No. 31 - 33, 1422-1424 (196o)

26. WESSEL, W., SCHOOG, M., WINKLER, E.: Polyvinylpyrrolidone (PVP), its Diagnostic, Therapeutic and Technical Application and Consequences thereof. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 21, 1468-1482 (1971)

27. WRAGE, K. H.: Untersuchungen über die Unterschiede in der Speicherung von Periston und Periston N. Frankf. Z. Path. 66, 246-251 (1955)

Ich möchte an dieser Stelle Herrn Professor Dr. W. Wessel für die Überlassung des Themas dieser Arbeit sowie für die Hilfsbereitschaft und verständnisvolle Unterstützung danken.

Gleichzeitig gilt mein Dank Herrn Professor Dr. K. Sellier für die Übernahme des Korreferates.

Lebenslauf

Am 12.4.1943 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. Wilhelm Sasse und seiner Ehefrau Hedwig geborene Spath in Koblenz geboren. Nach dem Besuch der Schenkendorf-Schule in Koblenz von 1950 - 1954 trat ich in das altsprachliche Gymnasium in Montabaur ein, wo ich auch am 5.3.1965 das Abitur ablegte.

Im Sommersemester 1965 begann ich mit dem Studium der Medizin in Bonn. Dort legte ich am 13.3.1967 das Vorphysikum ab und bestand am 10.10.1968 das Physikum. Am 4.2.1972 bestand ich das Staatsexamen in Bonn und nach einer einjährigen Medizinalassistentenzeit am Krankenhaus Marienhof in Koblenz erhielt ich am 2.5.1973 die Approbation. Seit 1973 bin ich als Assistenzarzt in gynäkologischer Fachausbildung am Marienhof Koblenz und seit 1.9.1975 am St. Elisabeth-Krankenhaus in Neuwied tätig.